

DEPARTAMENTO DE MEDICINA

FACULTAD DE MEDICINA

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MADRID



**FUNCIÓN RENAL EN LOS PACIENTES CON
HEPATOPATÍA POR VIRUS C. INFLUENCIA EN EL
TRATAMIENTO.**

BENJAMÍN POLO LORDUY

TESIS DOCTORAL

MADRID 2017

DEPARTAMENTO DE MEDICINA

FACULTAD DE MEDICINA

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MADRID

BENJAMÍN POLO LORDUY

LICENCIADO EN MEDICINA Y CIRUGÍA

MASTER EN GASTROENTEROLOGÍA

MÉDICO ESPECIALISTA EN APARATO DIGESTIVO

DIRECTOR: Dr. Emilio González Parra

CO-DIRECTOR: Dr. Juan Carlos Porres Cubero

INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN SANITARIA-FUNDACIÓN JIMÉNEZ
DÍAZ

SERVICIOS DE APARATO DIGESTIVO Y NEFROLOGÍA

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MADRID

A mis hijos Arturo y Sergio.

Por darme la fuerza y el apoyo para seguir creciendo más.

Agradecimientos:

A mis directores de tesis los Dres. Emilio González Parra y Juan Carlos Porres Cubero, el conocimiento adquirido y la gran oportunidad de desarrollar este proyecto y más aún en un tema que me apasiona, la hepatología y especialmente el VHC en pacientes con nefropatías. El apoyo recibido por ellos no tiene precio, de la que estaré muy agradecido por siempre.

Emilio has logrado que un esfuerzo sobrehumano se perciba como algo alcanzable y que se exponga de manera simple, sin mostrar la gran complejidad que entraña.

Al llevar a cabo esta tesis, me hace sentir como estar marcando un hito en la historia, ya que todos los cambios surgidos en cuanto a las nuevas terapias y ver el declive de esta infección, hasta el momento que se erradique, algo que era inimaginable hace tan solo unos años.

A Juan Carlos por la confianza mantenida en mí desde el momento que terminé mi residencia, a pesar de que, en aquellos momentos, el trabajo escaseaba y se consideraba un privilegio, que pocos conseguían.

Dar las gracias a mis compañeros de trabajo, y a la vez amigos, principalmente a Orencio y Rocío, en los que he sentido el apoyo tanto en los buenos como en los malos momentos. He de decir que es muy reconfortante poder contar con vosotros.

A mi familia, que, a pesar de no estar cerca de mí, me han apoyado y han sido conscientes del esfuerzo realizado.

A Arturo y Sergio, a quienes ver crecer me llena de orgullo y felicidad.

A Mónica, que ha sabido llevar las riendas en mis ausencias.

A Cristina, por su comprensión, fuerza y la tenacidad sin las que no podría haber realizado este proyecto.

A mis padres que estoy seguro compartirían orgullosos este momento.

A todos y cada uno de vosotros que han conseguido hacer de este trabajo que me sea más fácil de lo que parece, siendo consciente que no es así.

Gracias, muchas gracias.

Abreviaturas:

25OHD: 25.hidroxi vitamina D.

3'NC: región 3'no codificante.

5'NC: región 5''no codificante.

AASLD: American Association for the Study of Liver Disease.

Ac VHC: anticuerpos frente al virus de la hepatitis C.

Ac HBC: anticuerpos anticore del virus de la hepatitis B.

ADN: ácido desóxiribonucleico.

ADNc: ácido desóxirubonucleico codificado.

AEEH: Asociación Española para el Estudio del Hígado.

ALT: alaninotransferasa.

Anti LKM: anticuerpos microsómicos de hígado y riñón.

APRI: AST to Platelet Ratio Index.

ARN del VHC: Ácido Ribonucleico del virus C de la hepatitis.

AST: aspartato transferasa.

bDNA: sistema Branched.

CCR: aclaramiento de creatinina.

CDVP: consumidores de drogas vía parenteral.

CHC: carcinoma hepátocelular.

Ci: cirrosis.

CKD: chronic kidney disease.

CKD-EPI: Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration.

CMO: contenido mineral óseo.

CREST: Calcinosis, Raynaud phenomenon, esophageal dysmotility, Sclerodactyly, Telangiectasia.

DAAs: Directly acting antiviral agents.

DP: diálisis peritoneal.

DS: desviación estándar.

E1: envoltura 1.

E2: envoltura 2.

EIA: enzimoimmunoanálisis.

Elisa: enzimoimmunoanálisis.

ELF: enhanced liver fibrosis.

EMA: European Medicines Agency.

ET: elastografía transitoria.

ERC: enfermedad renal crónica.

F: fibrosis.

FDA: Food Drug Administrations.

FG: filtrado glomerular.

FIB-4: fibrosis index based on the four factors.

Forward: zona intermedia entre cebador directo.

FRET: fluorescencia por resonancia.

g: gramos.

GGT: gamma glutamil transpeptidasa.

GP: glicoproteínas.

HAI: Histologic Activity Index.

HAI: hepatitis autoimmune.

HC: hepatitis crónica.

HCC: hepatitis crónica por el virus de la hepatitis C.

HCC Ag: antígeno core del virus de la hepatitis C.

HD: hemodiálisis.

HGM-1: Hospital Gregorio Marañón (HGM)-1 index.

HGM-2: Hospital Gregorio Marañón (HGM)-2 index.

HVR: zona hipervariable.

IAH: índice de actividad histológica.

ICAM-I: adhesión celular.

IDSA: Infectious Diseases Society of America.

Ig: inmunoglobulina.

IL2: interleucina 2.

INR: International Normalized Ratio.

INF α : interferón α .

INF γ : interferón gamma.

IQR: intervalo intercuantil.

IR: resistencia a la insulina.

ISDR: región determinante de la sensibilidad al interferón.

KD: kilodaltons.

KDIGO: Kidney Disease Improving Global Outcomes.

kPa: kilopascales.

LDH: lactato deshidrogenasa.

LDL: Low-density lipoprotein.

LDLR: lipoproteínas de baja densidad.

LT: linfocitos T.

MDRD4: Modification of Diet in Renal Disease-4.

MEC: matriz extracelular.

MMP: metaloproteínasa.

NK: natural killer.

N-terminal: zona aminoterminal.

NS: proteínas no estructurales.

n-TIR: formación de nitrotirosina.

ON: óxido nítrico.

ONSi: óxido nítrico sintasa inducible.

ORF: open reading frame.

PCR: Reacción en cadena de polimerasa.

PEG: polietilenglicol.

PKR: proteína cinasa R.

Piecimeal necrosis: hepatitis interfase periportal o periseptal.

PIIINP: péptido N- terminal del colágeno tipo III.

PNT: formación de peroxinitrito.

Poli-UC: secuencia rica de poliuracilo.

PTB: proteína fijadora de tratos de poliprimidina.

PTH: parathormona.

PTHi: parathormona intacta.

RCV: riesgo cardiovascular.

Región c: región "core".

Reverse: zona intermedia entre el cebador inverso.

RIBA: inmunotransferencia con antígenos recombinantes.

RIC: rango intercuartil.

RM: resonancia magnética.

RT-PCR: sistemas de transcriptasa inversa con reacción en cadena de polimerasa.

SVR: sustained viral response.

SVR-12: sustain undetectable viral load for 12 weeks.

TC: tomografía computarizada.

TGF β 1: factor de transformación del crecimiento β 1.

TIMPS: tissue inhibitors of metalloproteinases.

Th: linfocitos T helper.

Th1: tipo 1.

Th2: tipo 2.

TIBC: capacidad total de fijación del hierro.

TMA: transcripción mediada por amplificación.

TNF: factor de necrosis tumoral.

TRF: transferrina.

TSR: tratamiento sustitutivo renal.

Tx: trasplante renal.

UTR: untranslated region.

VCAM-1: adhesión vascular.

VDLDL: Very Low-density lipoprotein.

VHA: virus de la hepatitis A.

VHB: virus de la hepatitis B.

VHC: virus de la hepatitis C.

VIH: virus de inmunodeficiencia humana.

YKL-40: inflammatory glycoprotein involved in endothelial dysfunction.

RESUMEN:

La relación entre la infección crónica por el virus de la hepatitis C (VHC) y el riñón es recíproca. Una infección por VHC de una mano aumenta el riesgo de insuficiencia renal con un mayor riesgo de morbilidad y mortalidad, por otro lado, la insuficiencia renal, especialmente en la etapa 4-5, aumenta el riesgo de la incidencia de VHC (en diálisis) y del deterioro hepático.

En la presente tesis hemos estudiado esta relación desde diversos puntos de vista. Se ha estudiado la relación entre el VHC y la ERC, realizando los análisis de cuatro poblaciones distintas. En un primer lugar 6334 pacientes en los que se determinó la serología frente al virus C de la Hepatitis en laboratorio de la Fundación Jiménez Díaz. En 3832 pacientes se analizó la función renal mediante el filtrado glomerular estimada por la fórmula MDRD4, para ver el grado de función renal. En 383 pacientes con hepatitis C de la Unidad de Hepatología antes de recibir terapia antiviral entre abril de 2014 y octubre de 2015 hemos analizado la tasa estimada de filtración glomerular calculada por la fórmula de Levey, el índice de fibrosis de elastografía transitoria (FibroScan) y el genotipo del virus antes y después del tratamiento. Y en 157 pacientes con un FGe basal entre 60 y 90 ml/min se ha analizado la función renal después del tratamiento viendo las diferencias entre diversos tratamientos.

Hemos observado que los pacientes VHC positivo tienen valores de cinética del hierro (hierro, ferritina e Índice de saturación de transferrina) superiores a los negativos y los valores de transaminasas han sido superiores en los pacientes VHC positivos, con valores de plaquetas más bajos. La prevalencia de enfermedad renal crónica en los pacientes VHC es superior a los pacientes con HVC negativo, y los genotipos más prevalentes en la población estudiada fueron el 1b, 1a y 3. En los pacientes con filtrados inferiores a 45 ml/min tienen una menor carga viral. Después del tratamiento antiviral se observa un leve deterioro de la función renal con un aumento de la creatinina sérica y descenso del filtrado glomerular. Así el 50% de los pacientes presenta un deterioro de la función renal tras el tratamiento, y los pacientes con mayor edad y carga viral son los que más empeora la función renal, este descenso es mayor en los tratados con sofosbuvir.

SUMMARY:

The relationship between the chronic infection by the hepatitis C virus (HCV) and the kidney is reciprocal.

A HCV infection heightens the risk of renal insufficiency, as well as that of morbidity and mortality. On the other hand, renal insufficiency, especially on stages 4 to 5, heightens the risk of HCV incidence (in dialysis) and hepatic deterioration.

Therefore, in this thesis project this relationship has been studied from different viewpoints. The relationship between HCV and chronic kidney disease (CKD) has also been studied, taking analysis from four different populations. Firstly, there are 6334 patients in which the serology was determined against the hepatitis C virus in a laboratory of the Fundación Jiménez Díaz. In 3882 patients, the kidney functioning was analyzed via glomerular filtering estimated by the MDRD4 formula, in order to see the order of kidney functioning. In 383 patients with hepatitis C from the hepatology unit, before receiving antiviral treatment between April 2014 and October 2015, the glomerular filtering rate was analyzed, being calculated by the Leyey formula, the rate of transient elastography fibrosis (FibroScan) and the virus genotype before and after the treatment. In 157 patients with a base estimated glomerular filtration rate between 60 and 90 ml/min, after receiving treatment the kidney functioning was analyzed, being able to spot the differences between the different treatments.

It has been noted that the HCV positive patients have iron kinetic values (iron, ferritin and transferrin saturation index) superior to the negative ones, and the transaminases values have been higher in the HCV positive patients, with platelets values being lower. The prevalence of the chronic kidney disease in HCV positive patients is superior to those that are HCV negative, and the most common genotypes in the studied population were 1b, 1a and 3. In patients with filtering rates inferior to 45 ml/min, the viral load was lower. After antiviral treatment, a mild deterioration in kidney functioning was observed, with serum creatinine increased and a descent in glomerular filtering. Therefore, 50% of the patients have a deterioration of kidney functioning after treatment. The patients in which the kidney functioning decreases the most are those of higher age and viral load. This descent is higher in those treated with sofosbuvir.

INDICE

INDICE.....	14
INTRODUCCIÓN	19
INTRODUCCIÓN	20
1. Introducción al VHC en población general	20
2. VHC Generalidades.....	23
• Organización y expresión del genoma.	24
• Replicación y morfogénesis del VHC.	27
• Genotipos, cuasiespecies y origen del VHC.	28
3. Epidemiología.	29
4. Prevalencia.	30
• Prevalencia y distribución de los distintos genotipos del VHC.	31
5. Incidencia.	31
6. Vías de transmisión	32
• Vías de transmisión parenterales.....	32
• Vías de transmisión no parentales.....	34
• Mecanismos virales:.....	36
• Mecanismos mediados por el sistema inmune:	37
• Citocinas.....	38
• El óxido nítrico (NO)	40
7. Anatomía Patológica:	40
8. Historia natural de la infección por VHC.....	41
• Hepatitis aguda por VHC	42

•	Hepatitis crónica y cirrosis hepática por el VHC:	43
•	Carcinoma hepatocelular:	45
9.	Diagnóstico de la infección por VHC:	46
•	Pruebas serológicas:	46
•	Pruebas virológicas o moleculares:	47
•	Determinación del genotipo del virus de la hepatitis C:.....	49
•	Diagnóstico de la infección en fase aguda:	51
•	Diagnóstico de la infección en fase crónica:	51
10.	Evolución y factores determinantes de la progresión:.....	52
•	Factores dependientes del huésped:	52
•	Factores dependientes del hígado:.....	54
•	Factores dependientes del virus:	55
11.	Manifestaciones extrahepáticas de la infección por el VHC.....	56
12.	Fibrosis hepática:.....	58
•	Fisiopatología de la fibrosis hepática. La matriz extracelular:	59
•	Activación de las células estrelladas:	59
•	Remodelación tisular y metaloproteinasa:	60
•	Hepatocarcinogenesis:.....	61
13.	La biopsia hepática:.....	62
•	Indicaciones de la biopsia hepática en la infección crónica por el VHC.	62
•	Sistemas de estadiaje:.....	63
•	Limitación de la biopsia hepática:.....	67
•	Complicaciones de la biopsia hepática:.....	68
14.	Métodos incruentos de valoración de la fibrosis hepática:.....	68
•	Pruebas basadas en la determinación sérica de marcadores biológicos:	69
•	Marcadores séricos indirectos de la fibrosis hepática:	70

• Marcadores séricos directos de fibrosis hepática:	73
• Software específico de Resonancia magnética nuclear (RMN):	76
• Software específico de TC (Fibro-TC):.....	76
15. Hepatopatía crónica por VHC en el paciente con enfermedad renal Crónica (ERC):	76
• Definición de ERC	76
16. Definición de la Enfermedad Renal Crónica (ERC).	78
17. Enfermedad Renal y VHC:	79
• Relación entre insuficiencia renal y HVC.....	79
• Relación riñón y patología glomerular.....	81
• Mayor mortalidad en pacientes VHC con ERC	82
• Los pacientes con VHC con ERC 4-5 deben ser prioritarios a la hora de ser tratados	82
• Mortalidad de causa extrarrenal en el paciente HVC.....	83
18. Nuevas terapias frente al VHC en pacientes con enfermedad renal:.....	83
• VHC en pacientes dializados:	83
• Diferentes terapias frente al VHC en pacientes con fallo renal.....	85
¿Qué tratamientos están indicados en la ERC estadio 4-5?	88
HIPÓTESIS.....	91
HIPÓTESIS.....	92
OBJETIVOS	93
OBJETIVOS	94
PACIENTES Y MÉTODOS	96
MÉTODOS	97
A. Elastograma.....	97
B.- Análisis de la Función Renal.....	98
C.- Determinación del VHC.....	100

Técnica para la realización de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) a tiempo real de carga viral de la hepatitis C	100
Ensayo para la detección de anticuerpos IgG (inmunoglobulina G) frente al VHC	100
D.- Factores de Riesgo Cardiovascular	100
E.-Cinética de Hierro	101
F.- Metabolismo mineral	103
G.- Marcadores de daño hepático.....	103
ESTADÍSTICA	106
ESTADÍSTICA	107
RESULTADOS.....	108
RESULTADOS.....	109
➤ ANÁLISIS DE RESULTADOS DE 6 MESES DE PACIENTES ANALIZADOS EN EL LABORATORIO DE LA FUNDACIÓN JIMÉNEZ DÍAZ	109
➤ DETERMINACIÓN DEL GRADO DE FUNCIÓN RENAL EN PACIENTES VHC POSITIVO FRENTE VHC NEGATIVO.	114
➤ FUNCION RENAL EN PACIENTES TRATADOS EN LA FUNDACIÓN JIMENEZ DÍAZ.....	116
➤ TRATAMIENTO DE LA INFECCIÓN POR EL VIRUS DE LA HEPATITIS C CON TERAPIAS LIBRE DE INTERFERÓN EN PACIENTES CON INSUFICIENCIA RENAL CRÓNICA CON FILTRADO GLOMERULAR ESTIMADO ENTRE 60 Y 90 ML/MIN/1.73M2. RESULTADOS DE PRÁCTICA CLÍNICA.....	121
DISCUSION	124
DISCUSION	125
I. DIFERENCIAS ENTRE PACIENTES POSITIVOS PARA EL VHC Y SERONEGATIVOS.....	125
➤ Análisis de la Función Renal.....	125
➤ Factores de Riesgo Cardiovascular	126
➤ Cinética de Hierro	128
➤ Metabolismo mineral.....	130

➤ Marcadores de daño hepático.....	131
II. FUNCIÓN RENAL EN PACIENTES VHC + FRENTE VHC -.....	132
➤ TRATAMIENTO DE LA INFECCIÓN POR EL VIRUS DE LA HEPATITIS C CON TERAPIAS LIBRE DE INTERFERÓN EN PACIENTES CON INSUFICIENCIA RENAL CRÓNICA.	136
CONCLUSIONES	140
CONCLUSIONES	141
BIBLIOGRAFIA.....	143
BIBLIOGRAFIA.....	144

INTRODUCCIÓN

INTRODUCCIÓN

1. Introducción al VHC en población general

El virus de la hepatitis (VHC), consiste en una tira compleja de RNA, que comparte características genómicas con los pestivirus, clasificado dentro de la familia Flaviviridae. Este es el responsable de las principales causas de hepatopatías a nivel mundial, produciendo daños estructurales del parénquima hepático a largo plazo (20-30 años), que van desde lesiones leves, hasta fibrosis avanzada, cirrosis, con o sin carcinoma hepatocelular (CHC). Actualmente se estima que existen unas 170 millones de personas infectadas a nivel mundial, teniendo en cuenta la progresión silenciosa, la mayoría de los pacientes infectados no son conscientes de la presencia de la infección(1).

El diagnóstico se determina con la detección del conjunto de anticuerpos antivíricos (Ac VHC) y de secuencias genómicas víricas (ARN del VHC) en el suero, estos se determinan mediante análisis de inmunoabsorción por unión enzimática (Elisa Ac VHC), que nos miden la cantidad de anticuerpos estructurales y no estructurales del VHC.

EL VHC puede ser causante de lesiones hepáticas con diferentes estados de gravedad, dependiendo de la evolución. Esta infección puede presentarse en órganos y células extrahepáticas, que conllevan alteraciones inmunológicas tipo crioglobulinemia, vasculitis y presencia de enfermedades que median la producción de inmunocomplejos, produciendo alteraciones de algunos órganos específicos, existe un grupo determinado de pacientes desarrollan anticuerpos microsómicos de hígado/riñón (anti-LKM), con similares características de la hepatitis autoinmune (HAI) tipo 2. Otras patologías tipo porfiria cutánea tarda, tiroiditis autoinmune, liquen plano, sialoadenitis, úlceras corneales, artritis migratoria, neuropatías y linfomas no Hodgkin de células B, no están claramente establecida la relación con el VHC.(2)

Se considera que el VHC es el causante del 20% de las hepatitis agudas, el 70% de las hepatitis crónicas, el 40% de las cirrosis hepáticas, 60% de los CHC y el 50% de los trasplantes hepáticos.

Las estimaciones a nivel mundial sobre el VHC, consideran entre 3 y 4 millones de nuevos infectados por año (1). Esta prevalencia es variable dependiendo del área geográfica estudiada. Oscila desde el 1% en América del norte, 0.4 a 3.5 en Europa, 0.9 a 2.3 en América latina y hasta de un 1 al 4% en el continente asiático. La prevalencia de pacientes infectados por VHC ha ido aumentando, sobre todo en poblaciones que son más vulnerables y grupos de riesgo tales como hemofílicos, abuso de drogas y promiscuidad.

Las vías de contagio son principalmente sangre y hemoderivados, entre las cuales podríamos mencionar principalmente:

- Consumo de drogas vía parenteral y a su vez compartir material de inyección.
- Entorno sanitario, debido a la esterilización inadecuada de materiales médico-quirúrgicos, especialmente jeringas y agujas; esta tendencia es cada vez menor, debido a mayor utilización de material reciclable.
- Transfusiones sanguíneas y hemoderivados sin previos estudios serológicos.

Se considera que aproximadamente a nivel mundial, 700000 personas mueren cada año, por enfermedades hepáticas relacionadas con la infección por el VHC (datos obtenidos asociación europea para estudios del hígado).

Hasta los años 90, las principales vías de contagio fueron las transfusiones sanguíneas, consumo de drogas vía parenteral y prácticas de inyección poco recomendables. Se supone que estas vías de transmisión eran las responsables del contagio en un 70% de las infecciones crónicas en los países desarrollados. En la actualidad las pruebas de enzimoimmunoanálisis (EIA) y análisis de los ácidos nucleicos, han conseguido erradicar la infección por el VHC relacionada con las transfusiones, así como en estos países es bastante improbable vías de contagio que estén relacionadas con técnicas médicas o quirúrgicas poco seguras. Se consideran en la actualidad, las principales causas de infección por VHC, los antecedentes de encarcelamiento, el alojamiento poco estable y el consumo frecuente de cocaína. Otras prácticas como acupuntura, tatuajes, relacionados con materiales poco fiables pueden causar ocasionalmente transmisiones por el VHC.

En cuanto al riesgo de contagio perinatal en personas heterosexuales, es considerado bajo, sin embargo las prácticas homosexuales masculinas, se consideran, una vía de

transmisión importante en los países desarrollados(3). La situación es completamente diferente en los países en vías de desarrollo o con pocos recursos, en los que hace falta la concienciación pública y el uso continuado de instrumentos médicos poco seguros, son considerados como la fuente principal de las nuevas infecciones por el VHC. La incidencia va cambiando debido a que el 75% de los pacientes recién infectados no presentan sintomatología, al menos en las primeras etapas de la enfermedad, y en gran parte de los casos, la detección se presenta en estadios avanzados de la enfermedad, años después de la transmisión. También pueden influir en el daño hepático otros factores como son la edad, sexo, genotipo del virus y presencia o no de enfermedades asociadas.

Aproximadamente el 15-45 % de las personas infectadas elimina el virus espontáneamente en un plazo de 6 meses, sin que requiera tratamiento alguno, el 55-85% presentará una infección crónica, y de estos un 15-30 % podría presentar cirrosis hepática en un plazo de 20 años.

La hepatitis C raramente es grave, ya que produce síntomas de un 10 a un 50% de los casos. En Europa, la infección por el VHC se considera responsable del 10% de los casos de hepatitis aguda (4). EL curso de la hepatopatía por VHC, tanto en infecciones agudas como crónicas dependen directamente del estado inmunológico del huésped y cofactores asociados que afecten a la célula hepática.

En los pacientes inmunocomprometidos, la infección por VHC puede presentar un curso más grave y la progresión es precoz, como ocurre en los pacientes receptores de trasplante renal, con la consecuente probable disminución de la supervivencia. Otro tipo de patologías pueden influir directamente en la evolución de la enfermedad, consiguiendo que la evolución natural aumente su curso, entre las que destacan: coinfección por el virus de inmunodeficiencia humana (VIH), el alcohol, coinfección por el virus de la hepatitis B (VHB), tumores malignos, especialmente hematológicos, debido a las múltiples transfusiones y períodos de anemización.

La prevalencia en España de anticuerpos frente al VHC (anti-VHC) se estima en un 2.5 % y en mayores de 60 años es de 4.1% de la población, por lo que la cifra podría llegar a unas 800000 personas infectadas en nuestro país, según la AEEH (Asociación Española para el Estudio del Hígado). La información de la que disponemos es limitada,

debido a que existen pocos estudios realizados en los últimos 10 años en diferentes regiones, lo que conlleva a una variabilidad geográfica que oscila entre el 1 y el 2.6 %.

La incidencia de la infección por el VHC es mayor en hombres que en mujeres y el rango de edad en el que predomina la infección está comprendido entre los 45 y los 65 años (5).

La progresión de la hepatitis C a cirrosis depende de una variedad de factores, que son los que influyen en el rápido avance de la misma. Los principales para desarrollar una fibrosis rápida son: la edad avanzada, el sexo masculino, obesidad, consumo de alcohol, diabetes tipo 2, resistencia a la insulina, infección por VIH, los pacientes inmunosuprimidos, especialmente los trasplantados, además del consumo de tabaco que acelera la inflamación y fibrosis (3,6).

2. VHC Generalidades.

En 1989 se descubrió el virus de la Hepatitis C (7,8) y desde entonces se ha convertido en un problema importante de salud mundial. Se trata de un virus que infecta preferentemente a los hepatocitos (virus hepatotropo) aunque puede infectar otras células como son los monocitos y los linfocitos (9,10).

El conocimiento de la estructura y mecanismo de la replicación del VHC es complejo y hasta la fecha no se conoce completamente dicha replicación debido, en gran medida, a la falta de sistemas de cultivos celulares eficientes de modelos animales para su estudio.

Taxonómicamente, el virus de la hepatitis C pertenece al género Hepacivirus y a la familia Flaviviridae (11). Se trata de un virus de ácido ribonucleico (ARN) monocatenario y de sentido positivo, de un tamaño aproximado de los 50-60 nanómetros (nm) de diámetro, que se replica preferentemente en el citoplasma de los hepatocitos. Adopta una forma icosaédrica y está previsto de una nucleocápside, formada por unidades repetitivas de la proteína denominada antígeno core del VHC (12,13) y de una envoltura compuesta por dos glicoproteínas, una transmembrana (E1) y otra de superficie (E2). *Figura 1.*

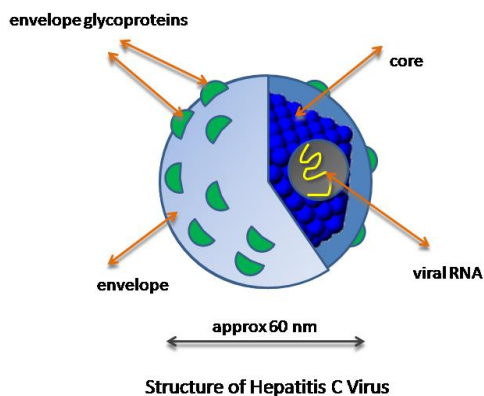


Figura 1. Estructura del VHC.

- **Organización y expresión del genoma.**

El genoma del VHC consiste en una molécula única y lineal de ARN de cadena simple de aproximadamente 9600 nucleótidos y sentido positivo. Consta de dos regiones no codificantes y altamente conservadas denominadas 5' y 3' UTR (untranslated región) que flanquean una región de lectura abierta (región ORF u Open Reading frame) que abarca casi todo el genoma. La región ORF codifica un gran polipéptido viral precursor que contiene de 3010 a 3033 aminoácidos [29] y es sometido a un posterior procesamiento por proteasas para generar un total de once productos independientes, dando lugar a proteínas estructurales (nucleocapside © o p21, envoltura 1 (E1), o gp 31 envoltura 2 (E2) o gp 70) y proteínas no estructurales (NS2, NS3, NS4a, NS5a, NS5b) (29,31). *Figura 2.*

En el genoma del VHC se diferencia claramente nueve regiones (10).

1. Regiones no codificantes.

El genoma está flanqueado por dos regiones que no se traducen, la 5 "UTR y la 3" UTR. Son secuencias que desempeñan funciones reguladoras de la expresión del genoma y participan en la replicación de ARN viral. Son las partes más conservadas del genoma, con analogías superiores al 98% entre las distintas variantes, lo que indica que una mutación en esta región resulta letal para el virus.

Región 5' no codificante (5'NC): Está formada por 341 nucleótidos y juega un papel importante en la traducción, la replicación (sus 40 primeros nucleótidos) y el

ensamblaje del genoma de VHC. Incluye el sitio de iniciación de traducción característico de los virus de ARN de sentido positivo, así como una región interna para la entrada del ARN mensajero en el ribosoma (IRES o internal ribosomal entry site) (14,15).

Región 3' no codificante (3' NC): consta de dos regiones bien definidas, la primera de 40 nucleótidos y la segunda de 98, separadas por una secuencia rica de poliuracilo (poli-UC).

Esta región parece participar tanto en la replicación del ARN viral como en la unión de ciertas proteínas celulares como la proteína fijadora de trectos de polipirimidina (PTB), que podrían requerirse para dicha replicación (16,17).

2. Regiones estructurales.

Las proteínas estructurales se localizan en la zona amino terminal (N- terminal) del precursor proteico y serán los componentes de los nuevos viriones.

Región "core" (Región c): Está formada por 570 nucleótidos y es donde se edifica la secuencia del antígeno core del VHC (HCcAg). Los primeros residuos parecen participar también en la iniciación de la traducción del genoma. El HCcAg es una proteína de 20-22 kilodaltons (kD) y 173 aminoácidos de longitud que forma la nucleocápside del virion del HVC y que podría participar en la supresión de la síntesis de proteínas que al inicio de la replicación del genoma viral (17,18), así como en la carcinogénesis, en el metabolismo lipídico, en la modulación de la respuesta inmune del huésped (19), en la apoptosis y en lo referente al estrés oxidativo y generación de radicales libres.

Regiones de las glicoproteínas de la envoltura (E1 y E2): estas regiones comprenden aproximadamente 1850 nucleótidos y codifican tres proteínas: las glicoproteínas E1 (gp 31) y E2 (gp70) y la proteína p7. Las dos primeras participan en la adhesión de los viriones a la membrana de las células huésped para infectarlas. La proteína E2 interactúa con el receptor CD81[33] y el receptor de lipoproteínas de baja densidad (LDLR)(20), utilizando este último para penetrar en la célula. Entre las regiones E1 y E2 se encuentra una zona denominada hipervariable (HVR), de aproximadamente 27 aminoácidos de longitud, que es la responsable de que el VHC pueda escapar del sistema inmune (21) . Por el momento no está clara la función de la proteína p7 (22).

3. *Regiones no estructurales (NS).*

Codifican a las proteínas no estructurales, las cuales no forman parte de las partículas virales. Se definen por las siglas NS seguido de un número arábigo que va del 2 al 5 (NS2, NS3, NS4A, NS4B, NS5A, NS5B).

Región NS2. Su producto de expresión (la proteína NS2) junto con la región amino terminal de la proteína NS3 participa de una proteasa que se activa en presencia de iones de zinc divalentes (enzima zinc-dependiente) y se inhibe por agentes quelantes. Esta proteasa lleva a cabo la lisis que induce la liberación de la proteína p23.

Región NS3. Esta secuencia codifica una proteína de 72 kD llamada p72 que por un lado presenta actividad serin-proteasa, cuya actuación determina la liberación de todas las proteínas NS del extremo carboxi-terminal de la poliproteína precursora, por lo que su presencia activa es esencial para la replicación del virus (23). Por otro lado la p72 presenta en la región C-terminal un dominio NTPasa/ARN helicasa que facilita la separación de las cadenas del intermediario de replicación y elimina las regiones del genoma cuya estructura secundaria dificulta el acceso de la ARN polimerasa, dicho de otra manera, se comporta como una helicasa (desenrolla el ARN viral durante la replicación) (22).

Región NS4: Está formada por 950 nucleótidos y se subdivide en 2 regiones conocidas como NS4a y NS4b. La secuencia codificada por el primero, la proteína p6, colabora en la actividad proteolítica que libera la p72, conocida por ello como NS3-4^a proteasa, además de potenciar la actividad de la helicasa de la p72, por lo que también se conoce como “potenciador de la helicasa”. La NS4b codifica una proteína de 27 kD, la p27, cuya función es desconocida por el momento.

Región NS5. Es la región más extensa del genoma, comprendiendo unos 3500 nucleótidos. También se subdivide en dos regiones (NS5a y NS5b). La NS5a codifica una proteína (p58) cuya función es desconocida aunque se piensa que participa en la regulación de la replicación viral y que puede estar involucrada en fenómenos de resistencia a la acción del Interferón a través de una zona que se denomina ISDR (región determinante de la sensibilidad al interferón) (24). Además, posee la capacidad de inhibir la actividad de la proteína quinasa R (PKR) (44). Por otro lado, interfiere con el metabolismo intracelular de los lípidos y de las lipoproteínas (25) y es importante en la

regulación del ciclo celular en la célula huésped. La subregión NS5b codifica a la p70 con actividad ARN-polimerasa dependiente de ARN, que ejecuta la replicación del genoma del virus (43). *Figura 2.*

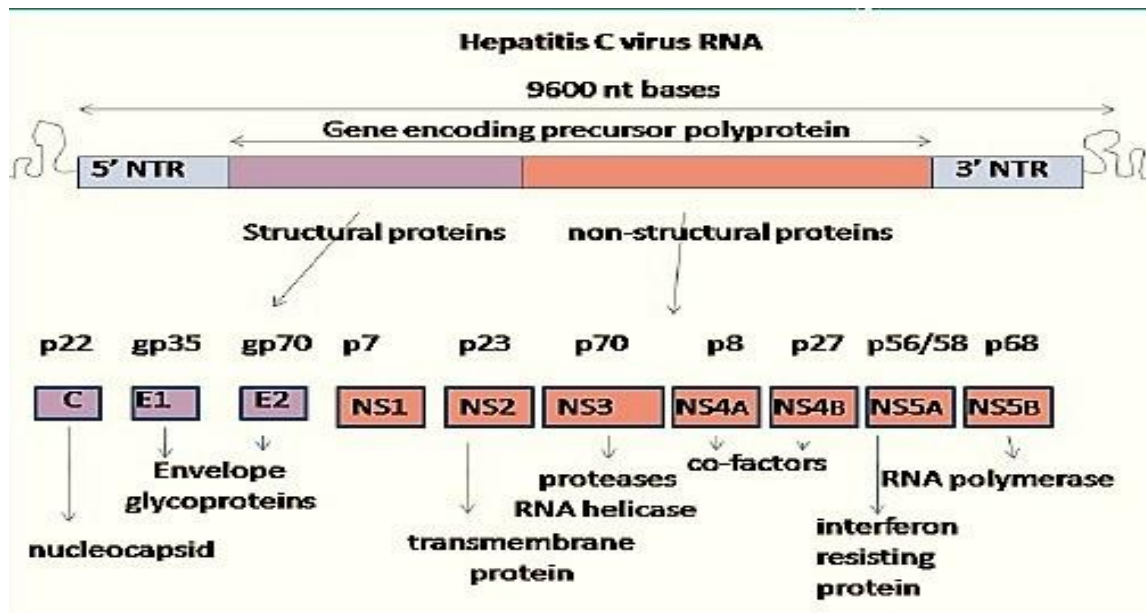


Figura 2. Organización y expresión del genoma del VHC.

- **Replicación y morfogénesis del VHC.**

La cadena positiva de ARN del VHC sirve tanto de molde para la síntesis de la cadena negativa de ARN durante la replicación, como para la traducción de proteínas virales. Por otro lado, es un ARN genómico que va a ser ensamblado en los nuevos viriones. La penetración de las partículas virales podría suceder a través de la interacción entre la E2 y el receptor celular de membrana conocido como CD 81, seguido de un proceso de endocitosis probablemente mediada por la E1. Una vez en citoplasma, el ARN viral es traducido por los ribosomas gracias a la actuación del IRES y de las secuencias situadas en el extremo 5' de la región C, produciendo la poliproteína precursora que va a ser procesada por la NS2-3 proteinasa, la NS3-4a proteasa y la serín-proteasa viral (p72), liberando las proteínas estructurales (HCcAg, E1 y E2) y las proteínas no estructurales (NS2, NS3, NS4A, NS4B, NS5A, NS5B).

Los productos derivados de este proceso se asocian a las membranas del retículo endoplásmico formando el complejo replicativo típico de los virus de ARN de sentido positivo.

La ARN polimerasa (p70) es el componente clave para la replicación del genoma. Posteriormente se produce el ensamblaje, probablemente con la interacción del extremo 5' del ARN viral y el Ag del VHC. Este último formara la cápside. Las proteínas E1 Y E2 se retendrán en la luz de las cisternas del retículo endoplásmico y la maduración de las partículas se producirá al brotar las nucleocápsides hacia el interior, adquiriendo así la envuelta. Las partículas completas se exportan fuera de la célula por tránsito a través del aparato de Golgi, aunque el VHC muestra una tendencia a permanecer asociado a componentes celulares. *Figura 3.*

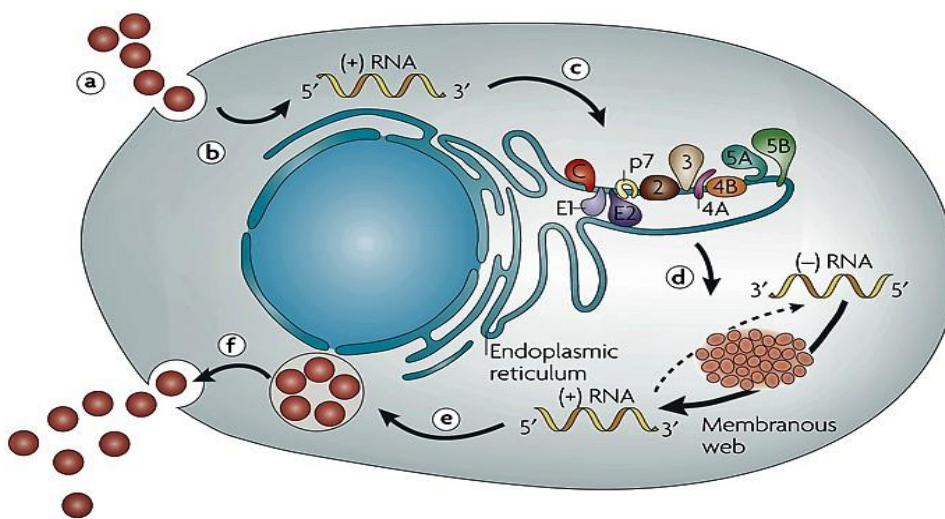


Figura 3. Replicación del VHC (46).

- **Genotipos, cuasiespecies y origen del VHC.**

El VHC genera nuevas variantes genéticas viables a un ritmo superior al de otros virus similares a él, lo que le habilita evolucionar con especial rapidez. Esta alta tasa intrínseca de mutaciones (aproximadamente $1,44 \times 10^{-3}$ por base y año) es debida a una elevada cinética de replicación viral y a la elevada tasa de error de la enzima responsable de la replicación (ARN polimerasa dependiente de ARN), que es alrededor de 10^4 , lo que condiciona una marcada heterogeneidad del genoma VHC (26,27).

Este hecho no es uniforme a lo largo del genoma de VHC, así las regiones no codificantes 3' y 5' exhiben un alto grado de conservación al comparar distintas poblaciones, sin embargo, las regiones E1, E2 (máxima en su región hipervariable), NS 2-5 y la mayoría de las regiones C sufren mutaciones que generan progenies viables

capaces de ser transmitidas. Estas mutaciones son la base del fenómeno conocido como “deriva genética” y su análisis conduce a la definición de los subgrupos poblacionales que conocemos como genotipos (27).

Por último, puede suceder que las condiciones del ambiente en el que se desarrolla la especie determinen que algunas de las mutaciones espontaneas que se producen en el genoma confieran a sus portadores una mayor capacidad para sobrevivir y, por lo tanto, una mayor oportunidad de transmitirse a las siguientes generaciones. Las regiones del genoma afectadas pueden experimentar cambios muy frecuentes y continuos, evolucionando con gran rapidez, fenómeno que involucra regiones genómicas que se conocen como “hipervariables” las cuales se localizan en el extremo 5’ de la región E2 del genoma de VHC. La respuesta inmune del huésped constituye un elemento ambiental que puede influir poderosamente en la selección natural de las variantes genéticas (26,28).

La comparación de secuencias obtenidas de fragmentos discretos de las regiones 5’NC, C y NS5b de cepas de VHC procedentes de diferentes regiones del mundo han llevado a definir hasta 6 genotipos distintos (designados en números arábigos; genotipos 1, 2, 3, 4, 5 y 6) y cuyo grado de homología se encuentra en proporción igual o superior al 70%. Pueden diferenciarse tres o más genosubtipos (con un grado de homología entre el 77-80%) en cada uno de ellos (designados con letra minúscula; 1a, 1b, 1c...) y, a su vez, diferentes poblaciones llamadas cuasiespecies (con un grado de homología mayor del 98%). De esta forma se define a los genotipos como grupos de VHC aislados, distintos desde el punto de vista genético, que han surgido durante la replicación del virus. Diversos genotipos se asocian con diferencias en la geografía, el modo de adquisición y la capacidad de respuesta a la terapia antiviral (26).

La existencia de cuasiespecies representa la heterogeneidad genética de la población del VHC dentro de un paciente individual, mientras que el genotipo representa la heterogeneidad genética del virus entre los pacientes. La naturaleza de la cuasiespecies del VHC puede ser uno de los mecanismos con el que el virus escapa de la respuesta inmune (29).

3. Epidemiología.

La infección por el VHC es una de las causas más importantes de hepatitis crónica (HC), Cirrosis (Ci) y Hepatocarcinoma (CHC). En los países industrializados, es el

agente causal de aproximadamente el 20% de las hepatitis agudas, 70% de las hepatitis crónicas y 40% de las cirrosis. Por otro lado, está presente en el 60% de los pacientes con hepatocarcinoma y es el causante del 30% de los trasplantes hepáticos (30,31).

4. Prevalencia.

No es fácil determinar la prevalencia de la infección, ya que depende de los métodos utilizados para estimarla y a la población estudiada (de sus hábitos, costumbres y nivel social y económico). Se calcula que es aproximadamente un 3% de la población general y que en el mundo existen entre 170 y 240 millones de portadores. En España la prevalencia oscila entre un 1% y el 2,7%, dependiendo del estudio analizado, por lo que se estima que existen unos 800000 individuos infectados (32). *Figura 4.*

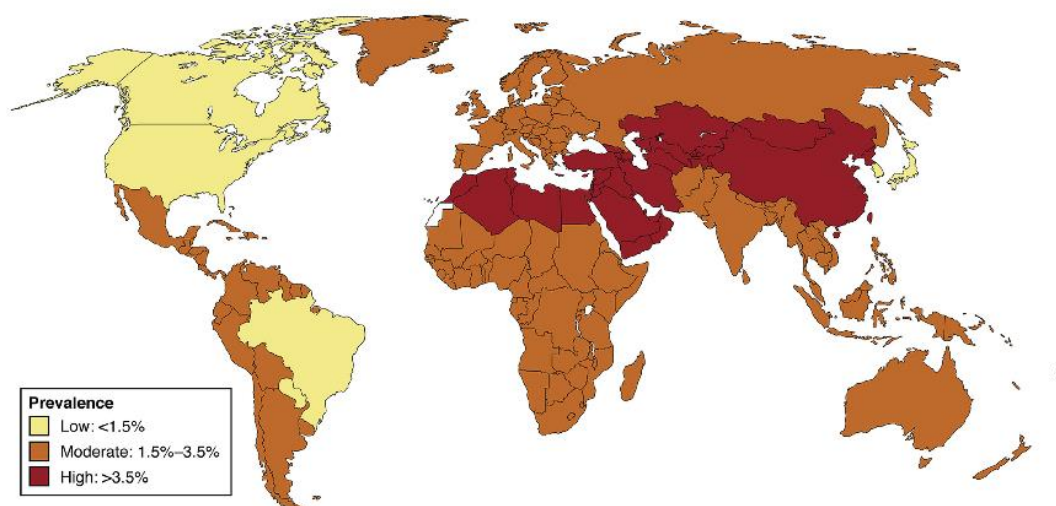


Figura 4. Prevalencia de la infección por VHC.

La prevalencia varía de forma importante dependiendo del área geográfica estudiada. Así en Norteamérica y Europa Occidental las tasas son bajas, en Japón son intermedias y en algunas zonas de Europa Oriental, Asia, Sudamérica y Egipto son elevadas. Es más, dentro de un mismo continente se ha observado que existe un gradiente norte-sur. En Europa se registran prevalencias del 0,5 en los países nórdicos frente al 2% en los países mediterráneos (7).

Pero la prevalencia de la enfermedad no solo varía con el área geográfica, sino que también lo hace con el sexo (es más frecuente en el sexo masculino), con la raza (es más

prevalente en individuos de raza negra) y con la edad (mayor en individuos de edad avanzada). En un estudio con población catalana realizado en el año 2002, se observó una prevalencia del 1,74% en pacientes de entre 25 y 44 años, frente a un 4,155 en pacientes mayores de 65 años (33).

En parte, la variabilidad demográfica se podría explicar por las condiciones socioeconómicas de una población, ya que se ha observado en diferentes estudios que la infección es más frecuente en aquellas poblaciones con peores medidas higiénicas (34,35).

- ***Prevalencia y distribución de los distintos genotipos del VHC.***

Los genotipos no están uniformemente distribuidos por el mundo. En Estados Unidos y en el norte de Europa, el genotipo que predomina es el 1a. El genotipo 1b es el más frecuente y tiene una distribución mundial. Los genotipos 2a y 2b representan el 10% de las infecciones y son más frecuentes en Japón y en el norte de Italia. El genotipo 3, que predomina en India y otras zonas de Asia, se ha introducido de forma reciente en países como EEUU, Europa, Australia, al igual que el genotipo 4, debido a los movimientos migratorios y un aumento del uso de drogas por vía parenteral en los años 60 y 70. El genotipo 4 predomina en África Central y Egipto, el 5 es endémico de África del Sur y el 6 del sudeste asiático (30,35)

Tanto en EEUU como en Europa, los genotipos predominantes son el 1a y 1b, siendo responsables de aproximadamente el 75% de los casos de Hepatitis Crónica C en estas áreas geográficas. Una pequeña proporción de pacientes está infectada por varios genotipos, siendo más frecuente que sea por los genotipos 1a y 1b.

En nuestro medio, el genotipo 1 es responsable del 60%-70% de las infecciones crónicas por VHC, seguido por el genotipo 3 (20%-30%) y, a más distancia, por los genotipos 2 y 4 (5%-10%).

5. Incidencia.

La incidencia de la enfermedad es muy difícil de estimar debido a que la mayoría de las hepatitis por virus C cursan de forma asintomática o con mínimos síntomas inespecíficos. Sin embargo, mediante estimaciones indirectas, se cree que el número de casos nuevos ha disminuido de forma importante desde la década de los ochenta del pasado siglo. Este descenso se atribuye, entre otras causas, a la mejora de las medidas

sanitarias, como son la determinación de marcadores virales en las donaciones sanguíneas y el uso de material desechable en la práctica clínica.

Aunque la incidencia está disminuyendo, la prevalencia de la infección es muy alta debido a que se crucifica aproximadamente en el 60-80% de los pacientes y se prevé que seguirá aumentando debido a que el periodo que transcurre entre la adquisición de la infección y la aparición de los primeros es, por lo general largo siendo, de media, unos 20 años (31).

6. Vías de transmisión.

- ***Vías de transmisión parenterales.***

Dentro de las vías de transmisión posibles del VHC, la vía parenteral es la más importante (36). En diversos estudios epidemiológicos se ha demostrado dicha vía a través de transfusiones de sangre o de sus derivados, por medio de hemodiálisis, por el uso de drogas por vía parenteral y en trasplantes de órganos sólidos de donantes infectados.

Antes de comenzar a realizarse de forma sistemática de detección de anticuerpos contra el VHC en donantes de sangre, la prevalencia del virus de Hepatitis no A no B en pacientes que recibían transfusiones era muy alta, alcanzando en algunas series hasta el 90% en pacientes con Hemofilia y el 60% en pacientes con Talasemia (37).

Se estima que un paciente que haya recibido una transfusión de sangre o derivados antes de 1990 tiene un riesgo de 10% de haber adquirido el VHC por cada unidad de sangre recibida (37).

La introducción del inmunoanálisis enzimático (test de ELISA) fue determinante en el cribado de los donantes de sangre, ya que la utilización de “marcadores sustitutivos” (determinación de alaninoaminotransferasa (ALT) y de anticuerpos anticore del VHB (Ac HBc) era poco sensible para detectar la infección (38). Los test de ELISA fueron mejorando con el paso de los años, aumentando considerablemente su sensibilidad, de tal manera que con la introducción de los de primera generación se consiguió una reducción del número de casos de Hepatitis C los receptores de sangre y hemoderivados

desde un 10% antes de 1990 a un 0,9%; y con los de la tercera generación esta cifra descendió hasta un 0,3%.

En la actualidad, el riesgo de adquirir una infección por el VHC en pacientes que reciben transfusiones de sangre y hemoderivados ha disminuido de forma importante y, se realiza la determinación del ARN- VHC de forma sistemática y se rechazan los donantes virémicos que son seronegativos, el riesgo es prácticamente nulo.

Sin embargo, a pesar de todas estas mejoras, actualmente se siguen documentando brotes en la población general y en algunas instituciones, probablemente a la mala aplicación de las medidas de higiene y de prevención de enfermedades transmisibles por la sangre.

Por otro lado, se comprobó que la infección por el VHC era mucho más frecuente en pacientes sometidos a hemodiálisis que en la población general de la misma área geográfica. Un estudio español determinó que la prevalencia de la infección por el VHC en pacientes con insuficiencia renal en hemodiálisis era del 7%. Más adelante haremos énfasis sobre la patología renal asociada al VHC (39).

Los consumidores de drogas por vía parenteral (CDVP) son el grupo de riesgo más importante. La prevalencia de anticuerpos anti-VHC en estos individuos es aproximadamente del 90%. Se ha detectado que la principal vía de transmisión en este colectivo es el uso compartido de jeringuillas contaminadas y en menor medida, la promiscuidad sexual y el bajo nivel socioeconómico (40). Sin embargo, en los últimos años ha disminuido la incidencia del VHC en estos sujetos debido al miedo de adquirir la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), en parte, por las campañas de salud pública realizadas. La prevalencia de anticuerpos frente al VHC en pacientes receptores de órganos de donantes con anticuerpos positivos es del 95%, por lo que, en la actualidad, se rechazan estos individuos como posibles donantes (41).

El personal sanitario puede sufrir el contagio del virus por parte de un paciente (36), pero lo que es lo más importante, también puede ser el vector de transmisión de la infección (42). Los factores que se ha demostrado que influyen en la probabilidad de transmisión del virus tras sufrir un pinchazo accidental con una aguja contaminada son la cantidad de sangre que se transmite al receptor, la presencia de ARN-VHC en suero, la carga viral y la profundidad de inoculación (38,43).

La estancia hospitalaria se ha analizado en múltiples estudios como posible factor de riesgo de adquirir la infección por VHC. A pesar de un control estricto de vías de contagio conocidas en los medios hospitalarios (transfusiones de sangre o punciones con material médico no desechable) se han documentado varios casos de infección por VHC tras estancias hospitalarias, sobre todo si es un recinto común. Este hecho se ha relacionado con deficientes medidas de asepsia que permitirán la transmisión de la infección de paciente a paciente o la utilización de viales multidosis (44).

Un estudio realizado en España demostró que en salas convencionales de hospitalización se produce transmisión nosocomial del VHC y esta tiene lugar de paciente a paciente, a pesar de un correcto cumplimiento de las medidas universales de prevención de enfermedades infecto-contagiosas. Dicho estudio se realizó durante 2 años con pacientes ingresados en 3 salas de una unidad de hepatología que no tenían otro factor de riesgo de adquirir la infección por VHC. Se registraban todos los procedimientos invasivos a los que eran sometidos los pacientes y se comprobó el adecuado cumplimiento de las medidas de prevención de transmisión de enfermedades infecto-contagiosas. En el periodo que duro el estudio se observó una seroconversión anti-VHC en tres pacientes con viremia positiva, o que arrojaba una incidencia anual calculada de seroconversión de VHC de 0,19 por cada 100 ingresos. Se encontró una relación estrecha entre las cepas de los tres pacientes infectados por VHC y pacientes con infección crónica por VHC que se encontraban en la misma habitación (dos casos) o en la misma sala (un caso), no observándose en ningún caso relación entre la seroconversión anti VHC y la realización de procedimientos invasivos o transfusión de hemoderivados (45).

El aumento de la práctica de procedimientos como son la colocación de piercings, la acupuntura y los tatuajes, ha proporcionado que aparezcan otras vías de transmisión del VHC (36), así como el consumo de cocaína, merced al que se ha descrito una vía de transmisión intranasal (46).

- ***Vías de transmisión no parentales.***

Se infiere de varios estudios que la transmisión del VHC por vía sexual existe, pero con una frecuencia muy inferior a otros virus que se transmiten por esa vía, como son el

virus de Hepatitis B y el VIH (25,28). Actualmente, las relaciones sexuales no se consideran una vía efectiva de transmisión del VHC en parejas heterosexuales estables (el riesgo de transmisión sexual anal es inferior al 1%) aunque se ha demostrado que puede existir en casos aislados (23,26).

Sin embargo, las tasas de prevalencia de la infección por VHC en hombres homosexuales son algo superiores a las de la población general (oscilan entre un 5% y un 7%) aunque son mucho menores que las referidas por virus de la Hepatitis B y para VIH en el mismo grupo de riesgo. Esta vía de transmisión se relaciona con el intercambio de secreciones corporales infectadas (que normalmente presentan bajos títulos de ARN-VHC) o sangre contaminada a través de la superficie de las mucosas no intacta (47). El riesgo de transmisión por vía sexual es más elevado en las personas promiscuas, que tienen parejas infectadas por el VIH o con enfermedades de transmisión sexual (47).

La mayoría de los estudios sobre la transmisión del VHC en individuos de la misma familia que conviven, arrojan una prevalencia de anti-VHC similar a la población general (1,3%- 2%) (48). Ninguno de ellos ha podido demostrar una vía de transmisión distinta a las mencionadas anteriormente, por lo que la vía de transmisión intrafamiliar no se acepta en la actualidad.

Sin embargo, está bien documentada la transmisión que ocurre de madre a hijo durante el parto (49), también llamada vía vertical. Esta vía no es muy frecuente, aunque si lo es en poblaciones donde la infección por el VHC es endémica (50,51). Los factores que se relacionan con mayor riesgo de transmisión vertical son la elevada carga viral en el tercer trimestre de gestación (50,52) y coinfección con VIH, debido probablemente a que estos individuos tienen niveles más elevados de ARN del VHC en suero por su condición de inmunosupresión (51,53). No se ha objetivado relación con el genotipo viral.

La transmisión vertical también es posible que ocurra intraútero si se realizan técnicas invasivas durante la gestación (reproducción asistida, amniocentesis, biopsia corial...) (54) o si se produce una transfusión maternofetal. *Tabla 1.*

A pesar de existir varias vías de transmisión demostradas, en uno de cada dos pacientes con infección por el VHC no se puede identificar la vía de adquisición de esta.

Tabla 1. Vías de transmisión del VHC.

Parenteral	Transfusiones de sangre o hemoderivados Hemodiálisis. Consumidores de drogas vía parenteral (CDVP). Trasplante de órganos sólidos. Personal sanitario (pinchazo accidental). Estancia hospitalaria. Consumo de cocaína. Otros procedimientos (piercing, acupuntura, tatuajes).
No parenteral	Vía sexual. Vía vertical (de madre a hijos).

Los mecanismos de persistencia viral y lesión hepatocelular en pacientes con infección por el VHC son diversos y nuestros conocimientos sobre ellos son, por ahora, incompletos.

Son varios los determinantes de la persistencia del virus, entre los que se incluyen su capacidad de generar cuasiespecies (55) que condiciona la evasión de las respuestas inmunes eficaces; una respuesta inmune congénita inadecuada junto con una insuficiente respuesta inmunitaria adaptiva, así como la inducción de tolerancia inmunológica.

- **Mecanismos virales:**

En general, el VHC puede producir una lesión hepatocelular mediante citotoxicidad directa, a través de una lesión celular asociada con la acumulación del virus indemne o de proteínas víricas, o de forma indirecta, a través de una respuesta inmune asociada con una cepa viral que interviene en la destrucción de los hepatocitos y en la producción de la fibrosis (56).

No siempre se puede demostrar una correlación directa positiva entre el nivel del virus y el grado de lesión hepatocelular, aunque en algunos estudios se han detectado niveles séricos de ARN-VHC más altos en pacientes con mayor actividad inflamatoria lobulillar que en los que se presentan inflamación mínima. Por otro lado, se han descrito alteraciones graves de la función hepática en pacientes inmunodeprimidos receptores de trasplantes con niveles de ARN-VHC en suero muy elevados en los que la biopsia solo mostraba una inflamación moderada del hígado, lo que apunta un efecto citopático directo del VHC (57) . Sin embargo, se cree que para que se produzca la lesión del hepatocito es probable que sea necesario un cierto nivel crítico de acumulación de antígenos VHC dentro de la célula.

- ***Mecanismos mediados por el sistema inmune:***

En la hepatitis aguda se desencadena una respuesta inmune intensa frente a múltiples antígenos virales con el fin de modular la inflamación, erradicar el virus y evitar la evolución de la cronicidad (56,58). Entre las distintas reacciones se encuentran una respuesta de anticuerpos específica, así como de células CD8+ (supresores citotóxicos), CD4+ y células NK (natural killer o células asesinas naturales) (59). También los linfocitos T (LT) no específicos y otras células mononucleares participan en la producción del daño hepatocelular.

El daño histológico y el pronóstico de la lesión hepática depende de la capacidad del virus para evitar la respuesta inmune, del vigor de la respuesta cooperadora y de la reacción de los linfocitos T citotóxicos para producir la lisis de los hepatocitos infectados (60). Cuando la respuesta es potente y multiespecífica se produce la resolución de la hepatitis aguda, sin embargo, una función cooperadora deficiente junto con una respuesta ineficaz de los linfocitos CD8, daría como resultado la perpetuación de la reacción inflamatoria produciendo inevitablemente daño hepatocelular (61).

La respuesta inmune de los linfocitos T cooperadores CD4+ se realiza a través de los linfocitos T helper (Th). Los linfocitos Th1 producen Interferón gamma (IFN γ), interleucina 2 (IL2) y factor de necrosis tumoral alfa (INF α) y promueven la respuesta citotóxica mediada por los linfocitos T. Las células Th2 sintetizan IL-4, IL-5, IL-6 e IL-

10, promueven las respuestas humorales productoras de anticuerpos (61) y disminuyen la respuesta Th1.

La respuesta de las células CD8 específica contra el VHC es policlonal y se dirige contra diferentes epítomos de las regiones estructurales y no estructurales de las respuestas virales (core, envoltura, N53, N54, y N55) (62), produciendo la destrucción de las células infectadas por citolisis directa o mediante inducción de la apoptosis, en este último caso, dando lugar a los cuerpos apoptóticos (cuerpos acidófilos de Councilman) que son fagocitados por los macrófagos (47).

La expresión definitiva del VHC y la consecuente cronificación de la infección, depende del equilibrio porcentual de la respuesta CD4 de tipo 1 (Th 1) frente a la de tipo 2 (Th 2) (63), ya que se ha comprobado que una respuesta inicial multiespecífica con predominio de células CD4 Th 1 ocurre de forma más frecuente e intensa en pacientes con infecciones agudas que se resuelven. Por otro lado, se cree que el mantenimiento de la respuesta por parte de las células CD8 determina la evolución benigna de la enfermedad. Se desconocen las causas principales de estas diferentes respuestas inmunes iniciales en la infección aguda por VHC.

- ***Citocinas.***

Las citocinas son mediadores de la inflamación y son decisivas para el comienzo y la perpetuación de la lesión hepática asociada a la infección por el VHC (56). Tienen capacidad para mediar apoptosis y reclutar y amplificar los componentes de la respuesta inmunitaria, activando a los linfocitos T y B, a los macrófagos y a los fibroblastos, a la vez que participan en la génesis de fibrosis hepática. *Tabla 2.*

En la siguiente tabla se resumen las citocinas más importantes en relación con la patogenia del VHC y sus principales funciones.

Tabla 2. Citocinas y respuesta adaptativa. Efectos biológicos principales.

Citocina	Efectos biológicos principales
IL-2	Induce la proliferación de linfocitos LT, LB Y NK. Citotóxica e inflamatoria (Célula productora: Th y LTc, Th1).

IFN- γ	Incrementa la expresión de MHC-I y II. Activa macrófagos y NK. Inhibe proliferación de células Th-2 (Célula protectora: TH1, T, NK).
TNF	Proinflamatoria. Pirógeno. Induce moléculas de adhesión (Célula productora: Th1, Tc).
IL-1	Inductor de la diferenciación Th2. Inhibe citosinas y mediadores proinflamatorios. Estimula crecimiento y diferenciación de linfocitos B. Induce IgE e IgG4 (Célula productora: Th-2, mastocitos, basófilos).
IL-10	Inhibe expresión de citocinas y otros mediadores proinflamatorios y la expresión MHC-II y las moléculas de adhesión en monocitos. Estimula a linfocitos B e induce IgG (Célula productora: Th 2, monocitos, macrófagos y LB).
IL-12	Inductor de la diferenciación Th1. Estimula activación T y NK (Célula productora: Monocitos).
TGF- β	Inmunosupresora. Inhibe el crecimiento de muchos tipos celulares, la síntesis de citocinas y la toxicidad natural. Actúa en el desarrollo de fibrosis (Célula protectora: T activados).
GM-CSF	Desarrollo y diferenciación de granulocitos y macrófagos (Célula productora: T activados).

Se ha demostrado un aumento de la síntesis hepatocelular del TNF α en las hepatitis crónicas virales (64), factor que actúa directamente sobre los receptores de la célula diana (hepatocitos y células de Kupffer) induciendo apoptosis (65) e incrementando la expresión hepática de las moléculas de adhesión celular (ICAM-I) y vascular (VCAM-1). La IL2 y el INF γ son estímulos importantes para la respuesta inmune antiviral del huésped ya que entre sus funciones destaca la activación de las células NK y la actuación sobre las células T facilitando su proliferación y activación. La IL12 es un potente inmunoestimulador de la respuesta Th1, induce la producción de INF γ Por parte de las células NK y de los linfocitos T (66) e inhibe, por otro lado, la replicación de los virus hepatotropos. El INF γ induce la activación de los fagocitos y la síntesis de quimiocinas incluida la propia IL-12. La IL10 es una citocina con propiedades

antiinflamatorias por los linfocitos T y los macrófagos, por lo que su efecto es antifibrogénico. El factor de transformación del crecimiento $\beta 1$ (TGF $\beta 1$), es producido por macrófagos, induce apoptosis y desempeña un papel en la fibrogénesis hepática promoviendo, en cultivos de fibroblastos, la síntesis de colágeno y otros componentes de la matriz extracelular (67). Se ha observado en los pacientes con VHC, un aumento de los niveles de TGF β tanto al nivel hepático como en plasma (60,68) así como una correlación positiva entre la concentración tisular de ARNm del TGF- β 1 y la intensidad de la fibrosis hepática, lo que sugiere que el TGF β 1 participa de forma activa en el desarrollo de esta (69). Por otro lado, los pacientes que obtienen una RVS tras el tratamiento antiviral presentan tanto una mejoría en el grado de fibrosis como un descenso de los niveles séricos de TGF β 1 (70).

- ***El óxido nítrico (NO)***

El óxido nítrico es un potente mediador de la respuesta inflamatoria. Se genera a través de la enzima óxido nítrico sintasa inducible (ONSi) presente en los hepatocitos y los macrófagos tras la activación por citocinas proinflamatorias. La expresión hepatocelular de ONSi está aumentada en pacientes con hepatitis crónica C (71), lo que condiciona la formación de grandes cantidades de ON que actúa como un factor angiogénico con acción citotóxica, esta última, en relación con la formación de peroxinitrito (PNT), un potente agente oxidante que promueve la formación de nitrotirosina (n-TIR). La nitrotirosina está aumentada en los pacientes con hepatitis crónica C y su acumulación se correlaciona con la gravedad de la lesión hepática (64).

7. Anatomía Patológica:

Los hallazgos histológicos de la Hepatitis Crónica van desde la existencia de mínima actividad inflamatoria sin fibrosis hasta cirrosis hepática.

En la fase de hepatitis aguda, a nivel histológico se observan cuerpos acidófilos, balonización de los hepatocitos y necrosis lítica de predominio centrolobulillar. Por otro lado, existe un infiltrado inflamatorio en los espacios porta, infiltración en el lobulillo y signos regenerativos. Con el tiempo se puede desarrollar una cirrosis macronodular donde el hígado tiene una consistencia aumentada. La superficie hepática es nodular,

con nódulos de 3 mm a 3 cm de diámetro y con tabiques conjuntivos elásticos que los rodean completamente. Los nódulos están formados por hepatocitos con disposición desordenada que presentan signos regenerativos y los tabiques se forman por colapso a los que se agrega fibrosis activa.

Las características histológicas que nos sugieren que la enfermedad está evolucionando a situaciones especiales son:

- a) La necrosis masiva, que ocurre cuando la necrosis compromete a más del 85% del hígado, lo que condiciona una grave insuficiencia hepática, situación que se da con más frecuencia en las hepatitis fulminantes.
- b) La necrosis en puentes, donde la necrosis de los hepatocitos sucede en las áreas que unen los espacios porta entre sí (porto-portal) o los espacios porta con las venas centrolobulillares (porto-central).
- c) Necrosis en sacabocado o necrosis erosiva que es la destrucción de los hepatocitos aislados de la placa limitante periportal, con interrupción de esta.

La existencia de fibrosis en puentes entre los espacios porta o entre estos y las venas centrolobulillares representa un estado de fibrosis avanzado previo a la aparición de una cirrosis establecida.

8. Historia natural de la infección por VHC

La infección por el VHC produce una hepatitis aguda que puede evolucionar a una hepatitis crónica, esta hacia una cirrosis y finalmente, puede evolucionar a un carcinoma hepatocelular. Es fundamental conocer la historia natural de la infección para comprender su importancia. *Figura 5.*

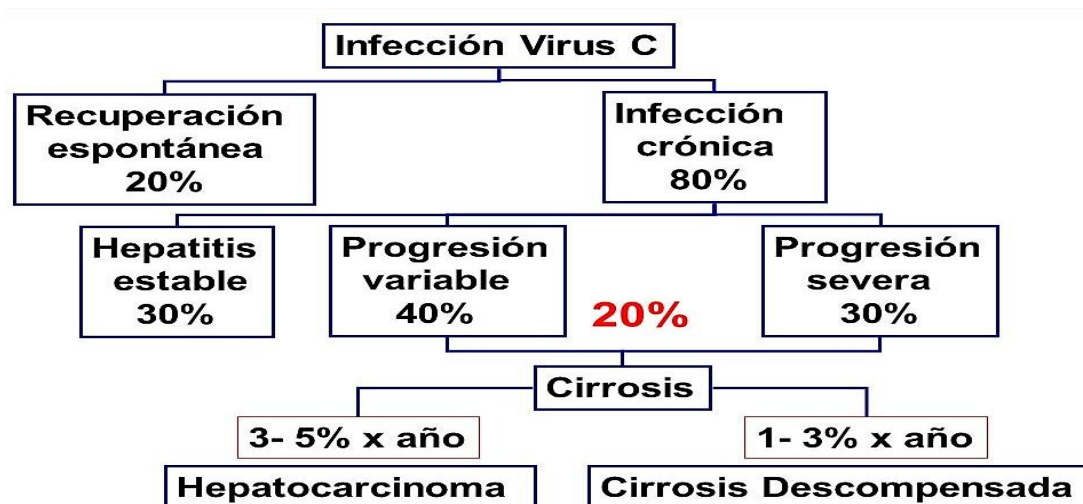


Figura 5. Historia natural de la infección por VHC.

- **Hepatitis aguda por VHC**

La infección es asintomática o subclínica en la mayoría de los casos, por lo que no suele diagnosticarse en esa fase. Aproximadamente un 20-30% de los pacientes presentan síntomas y tan solo el 10-15% desarrollan ictericia.

No es posible realizar un diagnóstico serológico en fases muy precoces de la infección debido a que existe un periodo (periodo ventana) de aproximadamente 10 semanas entre la exposición al virus y la detección de anticuerpos anti-VHC en plasma (6). El ARN-VHC se puede detectar en suero en la primera o segunda semana tras la exposición, no obstante, hasta un 30% de los pacientes continúan con el virus indetectable en sangre durante periodos largos de tiempo, que pueden llegar a ser hasta 9 meses tras la exposición. Después de este periodo, la mayoría de los pacientes positivizan el ARN-VHC. Los parámetros de lesión hepática se elevan pasadas de 2 a 8 semanas, siendo frecuente encontrar cifras muy altas de ALT y de gamma glutamil transpeptidasa (GGT). Sin embargo, la elevación de transaminasas en estos pacientes suele ser inferior a la observada en el resto de las hepatitis víricas.

Tras la infección aguda pueden ocurrir diferentes situaciones. La primera posibilidad es la erradicación del virus con recuperación total de la lesión hepática. Se da en el 15-45% de los pacientes con hepatitis aguda C y la negativización del ARN-VHC sérico coincide con la normalización de los valores de ALT. Esta circunstancia es más

frecuente en enfermos que sufren hepatitis aguda clínicamente manifiesta. La segunda situación es la normalización rápida de las enzimas hepáticas, pero con persistencia de la viremia (estado de portador inactivo) y en la tercera, que representa al 40-60% de los casos, tanto el ARN-VHC como las enzimas hepáticas se mantienen elevadas en suero durante más de 6 meses. Este último grupo de pacientes son aquellos que evolucionan hacia una hepatitis crónica (32).

El riesgo de insuficiencia hepática aguda por el VHC es muy bajo y existen pocos casos en la literatura de fallo hepático fulminante debido a esta causa (72).

- ***Hepatitis crónica y cirrosis hepática por el VHC:***

La característica más relevante del VHC es su capacidad de inducir una infección crónica en aproximadamente el 60-80% de las personas infectadas. No son bien conocidos los mecanismos o los factores por los que unos pacientes son capaces de aclarar por completo el virus mientras que en otros se produce una infección crónica, aunque parecen ser múltiples y dependientes de factores virales y del huésped (73).

Un estudio realizado en el año 1999 determinó que factores como la raza blanca, la aparición de ictericia en la fase aguda y una baja carga viral se relacionaban con el aclaramiento espontáneo del VHC (74). Otros factores que se han propuesto como predictivos de mayor tasa de aclaramiento del virus podrían ser el sexo femenino, la existencia de clínica de hepatitis aguda, así como títulos altos de anticuerpos contra las proteínas estructurales del VHC (75) y la persistencia de una respuesta VHC específica de las células T CD4 (76), mientras que no aparece determinante de una mejor o peor evolución el genotipo viral.

Recientes estudios han demostrado que existe una correlación entre las respuestas virales obtenidas en los pacientes infectados crónicamente por el VHC y un gran número de polimorfismos genéticos de los que hablaremos más adelante.

La hepatitis crónica por VHC (HCC) cursa de forma asintomática y en el transcurso de muchos años en la mayoría de los pacientes, por lo que en numerosas ocasiones se diagnostica de forma casual tras un análisis periódico donde se objetiva un aumento de las transaminasas. Un tercio de los casos presentan clínica inespecífica y/o

hepatomegalia y un porcentaje menor de pacientes desarrollan ictericia, signo que se considera de mal pronóstico.

La fase de hepatitis crónica se manifiesta analíticamente con aumento de transaminasas, especialmente de ALT, sin embargo, este hallazgo puede estar ausente en pacientes con ARN-VHC presente en suero (46).

Existe un subgrupo de pacientes que presentan transaminasas persistentemente normales con títulos de ARN-VHC detectables en suero y son diagnosticados mediante el cribado de donantes de sangre o por análisis rutinarios en las revisiones de empresa. Estos pacientes, en general, suelen presentar un grado de inflamación muy leve y discreta o nula fibrosis, sin embargo, un número muy pequeño de ellos puede presentar fibrosis importante en la biopsia hepática (77,78).

Cuando la fibrosis es muy avanzada y la lesión hepática es muy irreversible, nos encontramos ante una cirrosis establecida. En las fases iniciales, la cirrosis esta compensada y sus síntomas son superponibles a los de los estadios previos de la infección por VHC. Posteriormente, el paciente puede sufrir diferentes grados de insuficiencia hepatocelular e hipertensión portal.

La proporción de enfermos con hepatitis crónica es extraordinariamente variable según se consideran unos estudios u otros. Se admite que el porcentaje de pacientes con infección crónica por VHC que desarrolla una cirrosis hepática es del 15% a los 20 años. La coexistencia de factores como el consumo de alcohol o la coinfección por el virus de la hepatitis B pueden acelerar dicha progresión, así como la situación de inmunosupresión en pacientes VIH o trasplantados (78,79).

Los datos analíticos que nos hacen sospechar que la enfermedad ha evolucionado a cirrosis son el aumento del tiempo de protrombina. En las pruebas complementarias como la endoscopia o la ecografía se pueden observar datos indirectos del desarrollo de hipertensión portal, pero es la biopsia hepática la que nos va a dar la certeza de la progresión a cirrosis.

Últimamente se están desarrollando diferentes técnicas para estimar el grado de fibrosis hepática de forma no invasiva y así evitar la realización de una biopsia hepática. Estos procedimientos se dividen principalmente en dos categorías: aquellos que utilizan la determinación sérica de distintos marcadores biológicos y los basados en métodos de

imagen entre las que se encuentran la elastografía transitoria (ET) o Fibroscan, la tomografía computarizada (TC) o la resonancia magnética (RM).

Cuando aparece cualquier manifestación grave de la hipertensión portal como la ascitis, la hemorragia digestiva por varices gastroesofágicas, la encefalopatía hepática o las infecciones bacterianas graves, nos encontramos ante una cirrosis descompensada y el único tratamiento posible, aparte del tratamiento de las complicaciones, es el trasplante hepático.

La incidencia de descompensación de la cirrosis es aproximadamente de un 4 a un 5% anual. La complicación más frecuente es la ascitis, seguida por la hemorragia por varices esofágicas y encefalopatía.

La supervivencia está determinada fundamentalmente por la edad y el grado de Child-Pugh, siendo en pacientes con cirrosis compensada del 92-96%, 83-91% y 79% a los 3,5 y 10 años. Cuando la enfermedad esta descompensada, aquellas descienden al 57% y 50% a los 3 y 5 años respectivamente.

- ***Carcinoma hepatocelular:***

El CHC ha presentado un aumento progresivo de su incidencia en el mundo occidental, siendo actualmente el quinto cáncer a escala mundial y al principal cause de muerte en los pacientes afectados de cirrosis hepática.

La incidencia y prevalencia de CHC en pacientes con cirrosis hepática es mucho mayor que en la población general y se desarrolla en pacientes con infección por el VHC en fases avanzadas (hepatopatías muy evolucionadas o cirrosis hepática) después de periodos prolongados de exposición al virus, hecho que explica que la media de edad de diagnóstico de estos pacientes oscile entre los 65 y 70 años. Se ha estimado aproximadamente un 2-4% de pacientes con infección crónica por el VHC en estudio cirrótico presenta un CHC y la prevalencia de marcadores del VHC en pacientes con hepatocarcinoma es muy alta. La incidencia varía según el estadio que se encuentre la hepatopatía, siendo de menos del 1% en pacientes con hepatitis crónica y del 3,7 al 7,1% en los casos de cirrosis establecida (80).

De este modo, se acepta que en nuestro medio el factor de riesgo más importante para el desarrollo de un CHC es la cirrosis por el VHC y que el riesgo de desarrollarlo, si

estudiamos el conjunto de enfermos con infección crónica por VHC, es del 1 al 4% anual. Sin embargo, no se ha demostrado un mecanismo oncogénico directo del VHC (81).

Determinados factores como la infección por VHB o el VIH, el consumo de alcohol o la coexistencia de otros procesos como la Diabetes Mellitus y la obesidad pueden actuar de forma sinérgica y favorecer el desarrollo del CHC en pacientes con infección crónica por el VHC.

9. Diagnóstico de la infección por VHC:

La clonación y secuenciación del genoma del VHC en 1989 permitió el desarrollo de distintas pruebas para la identificación de fragmentos de fragmentos genómicos y de anticuerpos frente al VHC en el suero de los pacientes infectados.

Los métodos diagnósticos se pueden dividir en:

- a) Métodos diagnósticos directos (análisis moleculares o virológicos) que determinan y cuantifican el ARN viral mediante la detección de los componentes estructurales virales.
- b) Métodos indirectos, entre los que se encuentran las técnicas serológicas que detectan anticuerpos específicos contra el VHC.
- c)

• Pruebas serológicas:

Estas pruebas se basan en la detección de anticuerpos dirigidos frente a diferentes antígenos estructurales y no estructurales del VHC. Las principales pruebas serológicas son el enzoinmunoanálisis (EIA) y la inmunotransferencia con antígenos recombinantes (RIBA) (81).

a) Enzoinmunoanálisis o ELISA.

Se trata de una técnica de diagnóstico inicial de Hepatitis C. Detecta anticuerpos frente al VHC que se generan frente a los diferentes epítomos de las proteínas que codifica el genoma viral. Los anticuerpos que desarrollan son inmunoglobulinas del tipo IgG. Existen tres generaciones de ELISA. Los ELISA de tercera generación detectan

anticuerpos dirigidos contra epítomos localizados en el core y proteínas no estructurales (NS3, NS4, y NS5) y tiene una sensibilidad y especificidad mayor del 99% en sujetos inmunocompetentes, siendo inferior en inmunodeprimidos, por lo que un resultado negativo en estos pacientes no descarta la infección por el virus, lo que hace imprescindible utilizar, en estos sujetos, un test que detecte ARN-VHC (30).

b) Inmunitransferencia con antígenos recombinantes o “immunoblot” recombinante (RIBA).

Se trata de una técnica de confirmación. Los antígenos individualizados son enfrentados por separado a la muestra problema, siendo el resultado positivo cuando presenta reactividad frente a dos o más antígenos; negativo, cuando no se detecta reactividad frente a ningún antígeno o indeterminado, cuando no sucede ninguna de las anteriores.

La prueba de RIBA se utiliza cada vez menos como test confirmatorio, ya que, en la práctica clínica habitual, para establecer la existencia de una infección activa por VHC, se determina el ARN-VHC tras obtener un resultado positivo del test ELISA.

• ***Pruebas virológicas o moleculares:***

Actualmente disponemos de métodos cualitativos y cuantitativos de detección del ARN-VHC.

En la infección activa, el ARN-VHC está presente en el suero del paciente y puede detectarse aproximadamente entre la tercera y cuarta semana tras la exposición aguda. Como la cantidad del ARN-VHC en suero de pacientes con hepatitis C es limitada, es necesario amplificar la muestra o señal de hibridación con distintos métodos, entre los que se encuentran los sistemas de transcriptasa inversa con reacción en cadena de la polimerasa (RT-PCR), la transcripción mediada por amplificación (TMA) y el sistema “*Branched*” (bDNA).

a) Pruebas cualitativas.

La detección del ARN se utiliza para poder confirmar la infección en pacientes con anticuerpos positivos, para confirmar/descartar la respuesta al tratamiento y monitorizar dicho tratamiento, en el diagnóstico de la infección en el periodo ventana, en la infección perinatal y en los casos de la alta sospecha y anticuerpos negativos en suero

que, aunque no es frecuente, es una posibilidad sobre todo en pacientes inmunodeprimidos.

En el primer paso del ensayo cualitativo RT-PCR, la transcriptasa convierte el ARN en ADNc (ADN complementario) que es utilizado como molde. Los indicadores utilizados son secuencias que corresponden a la región 5' UTR. La fase de amplificación viene seguida de la fase de detección mediante una hibridación con sonda específica. La prueba de PCR (reacción en cadena de polimerasa) cualitativa para el ARN del VHC es muy sensible, detectando su presencia a partir de 20 unidades internacionales por mililitro (UI/ml). Un resultado positivo confirma la replicación activa del Virus, pero un test negativo no excluye viremia y puede reflejar solo un descenso transitorio de la carga viral por debajo del límite de detección del test.

Los ensayos basados en el sistema TMA (*transcripción medida por amplificación*) utilizan un sistema más complejo de reacciones con participación de la ARN-polimerasa y la transcriptasa inversa bajo condiciones isotérmicas de amplificación del ARN mediante intermediarios del ácido desoxirribonucleico (ADN). Pueden detectar niveles muy bajos de ARN-VHC (5-10 UI/ml) que son imperceptibles con sistemas RT-PCR (82).

b) Pruebas cuantitativas.

El método del bADN (*sistema "Brabched"*) de detección del ARN utiliza una sonda de oligonucleótidos en fase sólida que captura el blanco de ARN, seguido de una hibridación secundaria mediante una sonda ramificada. Para poner de manifiesto la reacción, se añade un complejo de enzima conjugada al que posteriormente se le agrega un sustrato. El ensayo de bADN de tercera generación ofrece una medición semicuantitativa del ARN viral con un límite de detección de 600 UI/ml.

El *método de RT-PCR* también se utiliza para la cuantificación del ARN, añadiendo un control externo o estándar de cantidad de ARN conocida que se amplifica junto con muestra (PCR competitiva). La comparación de ambas nos permite calcular la concentración de ARN de la muestra (83,84).

En la actualidad la detección del ARN-VHC se realiza por PCR a tiempo real que es mucho más sensible y rápida que las pruebas cualitativas, con un límite inferior de detección de 15 UI/ml. Su principal característica es que permite cuantificar la cantidad

de ARN presente en la muestra original. Dentro de las técnicas de PCR a tiempo real, se diferencian aquellas basadas en fluorocromos no específicos y las basadas en sondas específicas.

En las técnicas basadas en fluorocromos, el ADN, que se multiplica su cantidad con cada ciclo, se une al fluorocromo produciendo fluorescencia que es medida por el termociclador apto para “RealTime” PCR. Permite cuantificar solo una secuencia por reacción, pero tiene la ventaja de utilizar *primers* normales para su realización. Es mucho más económica que la realización de PCR con sondas específicas.

Las técnicas basadas en sondas específicas utilizan una *sonda* unida a dos fluorocromos que hibrida en la zona intermedia entre el cebador directo (*forward*) y el inverso (*reverse*), cuando la sonda está intacta, presentan una transferencia energética de fluorescencia por resonancia (FRET).

La PCR tiempo real presenta ventajas frente a la PCR tradicional. La fundamental es su mayor sensibilidad lo que disminuye el riesgo de falsos negativos. El hecho de que los datos sean tomados en la fase exponencial del proceso asegura que ningún componente pueda estar limitando el proceso de amplificación. También es más rápida y tiene menos probabilidad de contaminación con lo que disminuyen los falsos positivos (74). *Tabla 3.*

- ***Determinación del genotipo del virus de la hepatitis C:***

El análisis filogenético de diferentes aislamientos del VHC nos indica la presencia de genotipos, subtipos y cuasiespecies. Se han identificado 6 genotipos diferentes del VHC y por lo menos 80 subtipos. Actualmente se dispone de diferentes alternativas para la detección del genotipo del VHC. Dependiendo de la tecnología empleada, estos sistemas se pueden clasificar en técnicas moleculares de genotipado y técnicas serológicas o de serotipado.

- a) *Técnicas de genotipo del VHC.*

Existen diferentes estrategias para la caracterización, mediante técnicas moleculares, de los diferentes genotipos del VHC. Todas ellas se basan en la realización previa de una técnica de amplificación de regiones específicas del genoma del virus. La posterior identificación de genotipos y subtipos se puede realizar mediante el análisis de la secuencia generada, por el estudio del polimorfismo de la longitud de los fragmentos

obtenidos por la actuación de enzimas de restricción o mediante técnicas de hibridación con diferentes sondas específicas para cada genotipo y subtipo del VHC.

b) Técnicas de serotipado del VHC.

Las pruebas del serotipado del VHC se basan en la respuesta serológica a diferentes proteínas antigénicas que corresponden a determinadas regiones del genoma del VHC. Algunas de estas pruebas basadas en técnicas de ELISA o inmunoblot utilizan anticuerpos dirigidos contra epítomos de las regiones NS4 o de la región core del VHC. Estas pruebas de serotipado resultan técnicamente más sencillas y económicas en comparación con las técnicas de genotipado, pero son menos sensibles y específicas y no permiten la diferenciación entre subtipos del VHC (85). *Tabla 3.*

Tabla 3. Diagnóstico de la infección por el VHC.

Diagnóstico de la infección por VHC	Pruebas serológicas
	EIA
	RIBA
	Pruebas virológicas.
	Cualitativas: RT-CPR; TAM.
	Cuantitativas: bDNA PCR a tiempo real
Determinación del genotipo VHC	Genotipado
	Serotipado

- ***Diagnóstico de la infección en fase aguda:***

Para establecer el diagnóstico de hepatitis aguda por VHC, se realiza la determinación de Ac anti-VHC (detectables a las 6-12 semanas tras la exposición) mediante una técnica de ELISA para el diagnóstico de la exposición al virus y de ARN-VHC viral mediante una técnica cualitativa para confirmar la infección activa (86,87).

Ante la presencia de ARN-VHC en ausencia de anticuerpos anti-VHC hay muchas probabilidades de que se trate de una hepatitis aguda C y la seroconversión posterior es la norma. Se puede dar la circunstancia contraria, es decir, que existen niveles de ARN indetectables y anticuerpos positivos. Ante esta situación debemos realizar otra determinación de ARN transcurridas de dos a tres semanas ya que sus niveles sufren oscilaciones y estas son más frecuentes en la fase aguda de la infección. El hallazgo de anticuerpos específicos en ausencia de ARN-VHC es sugestivo de infección pasada y resuelta, aunque debemos repetir la determinación de ARN-VHC en los siguientes meses. Nos puede resultar de utilidad analizar estudios previos realizados al paciente, como los datos de laboratorio o pruebas de imagen para determinar si se trata de una hepatitis C aguda o crónica.

Por otra parte, la normalización de los niveles de transaminasas durante el seguimiento de la hepatitis aguda C a menudo se acompaña de la desaparición transitoria de ARN viral durante varias semanas. Para confirmar la resolución espontánea de la infección, se requiere demostrar la ausencia de ARN en varias determinaciones separadas por periodos de, al menos, 3 -6 meses.

- ***Diagnóstico de la infección en fase crónica:***

La hepatitis crónica se caracteriza por la presencia de anticuerpos frente al VHC y niveles de ARN detectables durante un periodo de más de 6 meses.

En ocasiones, en pacientes inmunodeprimidos o hemodializados, no se pueden detectar anticuerpos anti- VHC específicos, por lo que el único marcador que nos permite hacer el diagnóstico es el ARN del virus (88).

Normalmente, los niveles de ARN durante la infección crónica son poco estables, no guardando relación con la gravedad de la lesión hepática.

10. Evolución y factores determinantes de la progresión:

En numerosas ocasiones se ha intentado clasificar a los pacientes dependiendo de si presentan una progresión rápida, intermedia o lenta a cirrosis hepática, ya que se ha observado que la velocidad de progresión de la enfermedad varía mucho de un individuo a otro. Así, hay pacientes que evolucionan rápidamente a cirrosis, desarrollándola en periodos muy cortos de tiempo (inferior a diez años), mientras que en otros la progresión es más lenta, pudiendo permanecer en estadios precirróticos durante 30 años o más. En la actualidad se sabe que un 33% de los enfermos desarrollan cirrosis en menos de 20 años (actividad fibrótica rápida), y un 31% desarrollaran la misma lesión pasados 50 años o más (actividad fibrótica lenta) (89).

Debido a que el grado de fibrosis inicial es un determinante muy importante en la progresión de la enfermedad, se ha tratado de identificar una serie de factores que condicionan una mayor velocidad de desarrollo en esta. Dichos factores se pueden dividir en aquellos relacionados con el huésped, aquellos dependientes del virus y factores externos.

- ***Factores dependientes del huésped:***

a) Edad. Desde los primeros trabajos publicados se observó que la edad en que se adquiere la infección es un factor determinante de la evolución de la fibrosis; a menor edad de adquisición menor probabilidad de progresión de la fibrosis (89,90). Posiblemente, este hecho podría ser consecuencia de las alteraciones inmunológicas y de la pérdida de resistencia de las células hepáticas con la edad.

b) Sexo. En los hombres, la enfermedad progresa más rápidamente que en las mujeres, posiblemente por el papel protector de los estrógenos en el desarrollo de la fibrosis (89,91,92).

c) Raza. Se ha demostrado que los enfermos afroamericanos tienen una evolución más rápida que los blancos.

d) Sustancias tóxicas. La influencia del alcohol en la progresión de la enfermedad hepática por VHC es indudable (89,93). Lo que todavía no está establecido es la cantidad de alcohol diaria que constituye un riesgo de progresión de la enfermedad. Se ha observado que ingestas superiores a 50 gramos al día (g/d) empeoran las lesiones

hepáticas. Este hecho lo confirmó un estudio donde se evidenció que los pacientes infectados por el VHC que además consumían más de 40-60 gramos (g) de etanol al día durante un periodo igual o superior a 5 años, tenían un mayor grado de fibrosis en la biopsia hepática que aquellos que no consumían alcohol. Sin embargo, no está aclarada la influencia de consumos moderados y discontinuos de alcohol en la progresión de la fibrosis.

También se ha sugerido que fumar más de 15 cigarrillos al día y fumar cannabis supone un riesgo de progresión de la enfermedad a estadios más avanzados (94).

E. Estados de inmunopresión. El 30% de los pacientes portadores de VIH están coinfectados por el VHC, ascendiendo este porcentaje a un 70% y solo analizamos a aquellos que adquirieron el virus mediante el uso de drogas por vía parenteral. Debido a la alteración de la inmunidad en este colectivo, la hepatitis por VHC es más grave, duplicando la progresión a fibrosis e incrementando en 6 veces el riesgo de descompensación de la enfermedad. Este efecto se hace mucho más evidente en enfermos con menos de 200 linfocitos CD4+ por milímetro cúbico, sobre todo si se adquiere la infección a una edad tardía y si se consume alcohol. Además, frecuentemente se asocian factores que empeoran aún más el pronóstico, como son el abuso de drogas, la hepatotoxicidad de los antirretrovirales y el propio VIH. Por otro lado, se ha observado que los pacientes que responden al tratamiento antirretroviral tienen una evolución superponible a los enfermos con hepatitis C monoinfectados. Visto lo anterior, es lógico pensar que la evolución de la infección por el VHC en los enfermos sometidos a inmunosupresión terapéutica es más agresiva.

F. Esteatosis hepática. Uno de los factores relacionados con la evolución de la hepatitis C es el acumulo de la grasa en el hígado. Un 30-70% de los pacientes con infección por este virus presentan esteatosis macrovacuolar, aunque este hallazgo podría ser dividido a la existencia de otras causas concomitantes como la obesidad o el consumo de alcohol. Hay suficiente evidencia científica para poder afirmar que el grado de esteatosis en la biopsia hepática se correlaciona directamente con el grado de fibrosis (95,96), aunque no se conoce con exactitud si esa asociación se debe a un efecto sinérgico entre el VHC y la esteatosis o a un efecto estimulador de la fibrosis que ejerce el depósito de grasa en el hígado. La esteatosis hepática se ha relacionado de una forma directa con el VHC en los casos infectados por genotipo 3, pero en los casos no infectados por este genotipo se

relaciona con factores determinantes de la esteatohepatitis no alcohólica, como son el sobrepeso y la resistencia a la insulina.

G. Sobrecarga férrica. La sobrecarga férrica primaria o secundaria produce una influencia negativa en la lesión producida por el VHC, hecho lógico ya que se sabe la acumulación de hierro colabora el daño oxidativo.

H. Coinfección por VHA y por VHB. Los pacientes con hepatitis C que presentan sobreinfección por el virus de la hepatitis A (VHA) tienen un mayor riesgo de hepatitis fulminante y muerte. Por otro lado, la coinfección VHC-VHB se relaciona con un peor pronóstico de la hepatopatía y con un mayor riesgo de progresión a cirrosis hepática y hepatocarcinoma. Este hecho se está revisando actualmente debido a que hay autores que aseguran que la coinfección por otro virus de la hepatitis normalmente condiciona una disminución de la replicación en uno o ambos virus y, por lo tanto, una progresión más lenta a fibrosis hepática.

- ***Factores dependientes del hígado:***

a) *Transaminasas*. La evolución de las transaminasas es un parámetro indicativo de la actividad necroinflamatoria del hígado, sin embargo, no guarda una relación directa con el grado de lesión crónica hepática y está influida por otros factores como son la obesidad, la resistencia a la insulina y la esteatosis asociada, que no relacionan directamente con la necrosis de las células hepáticas. No obstante, se ha evidenciado en estudios longitudinales que los niveles séricos de ALT tienen un valor predictivo de la progresión de la enfermedad, ya que en los pacientes con ALT persistentemente normales presentan una evolución más lenta a estados avanzados y fibrosis (77). Se estima que la probabilidad de progresión de la fibrosis en este grupo de pacientes es de 0,006 a 0,008 unidades de fibrosis por año según la escala METAVIR, habiéndose comunicado una fibrosis mayor de F2 en el 5-30% de todos los casos analizados y una prevalencia de cirrosis del 1 al 6% (31,97) . Sin embargo, el tener cifras de ALT normales no asegura que haya una cirrosis establecida, debido a que en este estadio la actividad inflamatoria es mínima, por otro lado, aquellos pacientes que sufren episodios repetitivos de elevación de las transaminasas tienen un peor pronóstico.

- ***Factores dependientes del virus:***

a) *Genotipo viral.* Dentro de los factores dependientes del propio virus, se intenta definir la influencia que ejerce el genotipo viral en la progresión de la enfermedad. Algunos estudios han apuntado que los pacientes infectados por el genotipo 1 presentan una tendencia mayor a progresar cirrosis hepática que los pacientes infectados por los genotipos 2 y 3 (98) . Sin embargo, el grupo de paciente infectados por el genotipo 1 tiene características demográficas diferentes (son de mayor edad y afectos de hepatopatías más avanzadas) que aquellos infectados por el genotipo no 1, por lo que su comparación podría estar sesgada por factores de confusión. Con todo esto, actualmente se admite que el genotipo viral no ejerce ninguna influencia referente a la progresión de la enfermedad, ya que se ha demostrado que, de forma aislada, sea un factor pronóstico en la evolución de la hepatitis crónica (89).

b) *Replicación viral.* En la mayoría de los estudios publicados no se ha demostrado que existe una relación entre la replicación viral y el grado de progresión de la enfermedad.

c) *Capacidad mutágena del VHC.* La gran capacidad mutágena y elevada variabilidad genética del VHC, le permiten escapar del sistema inmune, lo que explicaría la alta tasa de cronicidad de la enfermedad y la diferencia en la respuesta al tratamiento combinado. Los factores que se ha demostrado que mejor correlacionan con la progresión de la enfermedad son la edad del paciente, los niveles séricos de ALT y el grado de actividad y fibrosis hepática. *Tabla 4.*

Tabla 4. Factores determinantes de la progresión de la enfermedad.

Dependientes del huésped	Mayor edad al contagio
	Sexo masculino
	Raza (afroamericanos)
	Consumo de sustancias tóxicas (alcohol, tabaco)
	Estados de inmunosupresión
	Coinfección VIH-VHC/ Coinfección VHB
	Esteatosis hepática
	Sobrecarga férrica
Dependientes del hígado	Aumento de transaminasas
Dependientes del virus	Genotipo viral (dudoso)
	Replicación viral (dudoso)
	Capacidad mutágena del VHC

11. Manifestaciones extrahepáticas de la infección por el VHC:

La infección crónica por el VHC se ha asociado epidemiológicamente a diversas manifestaciones extrahepáticas.

Los mecanismos patogénicos involucrados en la mayoría de las manifestaciones con de índole linfoproliferativo, inmunológico y autoinmune, como son las reacciones autoinmunes motivadas por las similitudes entre las proteínas del huésped y los antígenos propios del virus, la formación y el depósito de inmunocomplejos y la expansión clonal de las células B linfoproliferativas. *Tabla 5a-b.*

Tabla 5a. Manifestaciones extrahepáticas del VHC. Evidencia científica (IA).

Crioglobulinemia mixta	Manifestaciones reumatológicas asociadas a CM Vasculitis cutánea crioglobulinemica Glomerulonefritis crioglobulinemica
Anticuerpos	

Tabla 5b Manifestaciones extrahepáticas del VHC probables (III-IV C).

Hematológicas	Linfoma no-Hodgkin B Trombocitopenia idiopática Síndrome antifosfolípido Anemia hemolítica Gammapatía monoclonal
Endocrinas	Tiroides autoinmune Autoanticuerpos tiroideos Diabetes mellitus
Neurológicas	Síndrome de Guillain Barré Leucoencefalopatía multifocal progresiva
Oculares y salivares	Sialoadenitis Úlcera corneal de Mooren Uveítis
Musculoesqueléticas	Gammapatía monoclonal Artralgias / artritis Artritis reumatoide Dermatopolimiositis Fibromialgia

Síndrome de fatiga crónica

Dermatológicos	Porfiria cutánea tarda Eritema multiforme Liquen plano Eritema nodoso Malacoplaquia Urticaria/ Prurito
Pulmonares	Fibrosis pulmonar idiopática
Renales	Glomerulonefritis
Miscelánea	Poliarteritis nodosa Lupus eritematoso sistémico, Síndrome CREST

12. Fibrosis hepática:

En los pacientes con infección crónica por VHC, conocer el estadio de la fibrosis hepática es fundamental para establecer el grado de progresión de la enfermedad, determinar el seguimiento necesario en cada caso, así como la necesidad y el momento idóneo para iniciar el tratamiento antiviral. Además de predecir la respuesta terapéutica, el estadio de fibrosis nos aporta una información decisiva para establecer el pronóstico de la enfermedad.

Cuantificar el tiempo que va a transcurrir hasta el desarrollo de una cirrosis hepática por métodos directos e indirectos, solo puede hacerse ante un caso individual y de forma aproximada. Hoy se sabe que la evolución de la fibrosis hepática es un proceso muy lento en la mayoría de estos pacientes, no siendo uniforme, ya que es de forma más pausada en los primeros años tras la infección, para acelerarse posteriormente de manera progresiva. Se estima, por los estudios realizados con series amplias, que la progresión global de la fibrosis es de 0,133 unidades / año (0,125- 0,143), siendo el tiempo medio de la evolución a cirrosis de 30 años a partir del inicio de la infección, aunque es de reseñar que existen importantes diferencias individuales. Se ha tratado de establecer la probabilidad de progresión de la enfermedad en razón al grado de fibrosis

encontrado en la biopsia hepática basal. Hay evidencia para afirmar que el porcentaje de desarrollo de cirrosis es de un 15% a los 30 años en los casos en los que en la biopsia inicial no se detecta fibrosis leve (estadio uno). Sin embargo, la progresión a cirrosis no es uniforme y varía enormemente entre los pacientes.

Poynard y cols describen tres patrones evolutivos:

- a) Fibrosantes lentos son aquellos con un tiempo de progresión a cirrosis no menos a 50 años y representan aproximadamente el 31% de los pacientes.
- b) Fibrosantes intermedios.
- c) Fibrosantes rápidos (33% de los pacientes) con un tiempo de progresión menos de 20 años (138).

- ***Fisiopatología de la fibrosis hepática. La matriz extracelular:***

La fibrosis hepática es considerada en la actualidad un proceso de reparación tisular altamente complejo que aparece ante un daño hepatocelular mantenido y en el que intervienen, de manera activa, diversos tipos celulares y citocinas profibrogénicas. La respuesta al estímulo fibrogénico comprende la formación de un infiltrado inflamatorio la activación, migración y proliferación de la CEH, la alteración de la MEC local y, por último, el depósito de una MEC densa.

- ***Activación de las células estrelladas:***

Tras la acción estimuladora paracrina de diferentes citocinas y quimiocinas fibrogénicas liberadas por las células de Kupffer, por el filtrado inflamatorio, por las células endoteliales y por hepatocito, se producen cambios morfológicos y funcionales de la CEH. Estas células activadas migran y proliferan en los focos de necrosis hepatocelular donde depositan componentes de la matriz extracelular y participan en el reclutamiento de las células inflamatorias. Todo esto condiciona que se produzcan cambios cualitativos en la MEC predominando el colágeno I sobre el III y el IV (aunque estos últimos también se encuentran incrementados), lo que conlleva la modificación de una matriz de baja densidad subendotelial a una fibrilar rica en colágeno, afectando al comportamiento de los hepatocitos, las células del endotelio vascular y las CEH.

En incremento de la capacidad de las CEH activas, que parece ser proporcional al grado de la lesión hepática, produce un progresivo aumento de la resistencia al flujo de la sangre y finalmente el aumento de la presión portal del hígado cirrótico. Las células endoteliales y las CEH son los elementos más importantes en la regulación de la resistencia intrahepática.

- ***Remodelación tisular y metaloproteinasa:***

En el curso de las hepatopatías crónicas no solo se produce un incremento de la síntesis de colágeno, sino una marcada disminución de su degradación. Las principales enzimas encargadas de regular este proceso son las metaloproteinasas (MMPs), cuya actividad es modulada por otras enzimas denominadas inhibidores tisulares de las colagenasas o TIMPs (tissue inhibitors of metalloproteinases) Las MMP-2 y MMP-9 son de especial importancia en la fibrogénesis hepática involucradas en la degradación de la membrana basal de baja intensidad del espacio de Disse.

Durante el proceso de fibrogénesis existe un marcado incremento en la expresión de las TIMPs y por tanto una inhibición en el hígado fibrótico es el de las células estrelladas que, tras proceso de activación celular, secretan grandes cantidades de TIMPs, impidiendo la degradación del colágeno secretado. Por el contrario, durante el proceso de regresión de la fibrosis que acontece una vez eliminada la noxa hepática la actividad de las TIMPs disminuye y la expresión de las colágenas aumenta marcadamente, favoreciendo la degradación del colágeno y aumentando los productos de degradación de este como son el propéptido N-terminal del colágeno tipo III (PIIINP), el propéptido carboxiterminal del colágeno II y IV y la piridinolina o el telopeptido carboxiterminal del colágeno I.

Diversos estudios, tanto a nivel experimental como en muestras de pacientes con hepatitis crónica, han demostrado la existencia de una relación entre el aumento de la expresión y la activación de diferentes MMPs y la progresión de la fibrosis en la hepatopatía crónica por el VHC. En las hepatopatías por VHC, el depósito de colágeno se produce en la zona periportal, donde existe una mayor necrosis hepatocitaria.

La fibrosis hepática ha sido considerada tradicionalmente un proceso pasivo e irreversible, concepto que está cambiando en los últimos años. Numerosas

observaciones experimentales y clínicas indican que la fibrosis hepática es un proceso potencialmente reversible. Se desconoce, sin embargo, si la capacidad de eliminar el tejido fibroso es igual en todos los pacientes y de que factores depende.

- *Hepatocarcinogenesis:*

Se han identificado gran variedad de factores de riesgo para desarrollar un CHC. Los más importantes son la infección crónica por el VHB y el VHC (comprenden más del 80% de los casos de CHC en el mundo), existiendo otros factores como son la exposición a la aflatoxina B1, el tabaquismo, el consumo de alcohol, enfermedades genéticas como la hemocromatosis, la porfiria cutánea tarda o el déficit de α 1-antitripsina.

La cirrosis hepática por sí misma, de cualquier etiología, es un factor de riesgo de desarrollar un CHC ya que al menos el 60-80% de los CHC se presentan sobre ella. El daño hepático crónico produce inflamación, muerte celular, regeneración celular y cirrosis, así como daño del ADN, displasia y finalmente transformación a CHC. Esta actividad necroinflamatoria en el hígado y el posible desarrollo de cirrosis, producen cambios a nivel genético con activación de protooncogenes e inactivación de genes supresores.

En la infección crónica por el VHC no se conocen bien los posibles mecanismos prooncogénicos, aunque en estos pacientes donde, casi de forma invariable, el CHC se produce sobre una cirrosis establecida. Los efectos que se observan derivados de estos cambios genéticos son defectos en el control de proliferación celular y en la muerte celular programada (apoptosis), resistencia a quimioterápicos, defectos en la diferenciación celular y adquisición de capacidades angiogénicas y metastásicas.

La generación de especies reactivas derivadas de estrés oxidativo causa mutaciones en distintos genes y altera la función de proteínas que intervienen en la regulación de la reparación del ADN, en el ciclo celular y en la apoptosis.

13. La biopsia hepática:

La primera biopsia hepática percutánea se realizó en 1923 y posteriormente fue modificada por Menghini en 1957. Desde entonces y durante los últimos 50 años, el empleo de este procedimiento se ha generalizado y ha permitido conocer mejor las bases anatomopatológicas de las enfermedades hepáticas.

- ***Indicaciones de la biopsia hepática en la infección crónica por el VHC.***

La biopsia hepática es el procedimiento más específico para evaluar la naturaleza y gravedad de las enfermedades hepáticas. Juega un papel importante en el diagnóstico y el manejo de las hepatitis crónicas virales y sigue siendo el patrón oro para determinar el grado de la inflamación y el estado de fibrosis. Además, proporciona información sobre el pronóstico y probabilidad de respuesta al tratamiento antiviral y nos permite determinar si existen otras causas concomitantes que puedan influir en la progresión de la enfermedad o en la respuesta al tratamiento, como son la sobrecarga férrica o la esteatosis hepática.

La indicación de la biopsia en los pacientes con la infección crónica por VHC está siendo revisada en la actualidad. Los pacientes infectados por los genotipos 2 y 3 presentan mayores tasas de curación con el tratamiento actual y la duración del mismo es considerablemente menor que el resto de genotipo, por lo que en estos pacientes no es necesario realizar una biopsia hepática de forma sistemática antes de comenzar el tratamiento. La confirmación de la mejoría histológica con la realización de una biopsia al finalizar el tratamiento, independiente del genotipo tratado, tampoco es necesaria, ya que es bien conocido que los pacientes con respuesta viral sostenida presentan una mejoría de su lesión hepática en la mayoría de los casos.

Sin embargo, la realización de una biopsia en los pacientes con infección crónica por el VHC está justificada para poder determinar el grado de actividad, necrosis y fibrosis presente en el tejido hepático lo que, en ocasiones, condiciona la indicación, del tratamiento combinado.

- *Sistemas de estadiaje:*

Se han desarrollado numerosos sistemas de estadiaje para poder realizar una evaluación objetiva de las lesiones anatomopatológicas. Esto permite no solo comprar las lesiones en diferentes grupos de pacientes sino también apreciar la progresión de la enfermedad en un mismo individuo.

En 1981 Knodell y colaboradores publicaron su índice de actividad histológica (IAH) y desde entonces se ha utilizado ampliamente. Posteriormente, se han desarrollado otros sistemas como son el de Scheuer, el de Ishak, y el de METAVIR, que fue diseñado para valorar la lesión histológica de los pacientes con hepatitis crónica por el VHC. Utilizando estos sistemas, las diferentes biopsias se pueden comprar más rápidamente.

Cada sistema asigna una puntuación numérica a cada una de las tres principales alteraciones encontradas en la hepatitis crónica: inflamación de los tractos portales, necrosis y apoptosis del parénquima y fibrosis hepática.

1. *Puntuación HAI (Histology Activity Index) o Índice de Knodell.* Está compuesto por cuatro números que se asignan por criterios individuales y forman una sola puntuación. El primer componente se clasifica de 0-10 y los tres restantes de 0-4. Las tres primeras puntuaciones (necrosis periportal/ en puente, degeneración intralobular/ necrosis focal, e inflamación portal) son indicativas del grado de inflamación que existe en el hígado. La clasificación de la inflamación, formada por la suma de estos tres componentes, puede ir de 0 a 18. Cero indica ausencia de inflamación; 1-4 significa inflamación mínima, 5-8 muestra una inflamación leve; 9-12 releva inflamación moderada; y 13-18 indica inflamación grave. El cuarto componente señala la cantidad de fibrosis en el hígado, y se clasifica de 0 a 4 (cirrosis). Para mayor capacidad discriminativa, ninguno de los ítems incluye el nivel 2. *Tabla 6.*
2. *Puntuación HAI (Histology Activity Index) Modificada o Índice de Ishak.* Amplia a 6 el número de estadios de fibrosis, graduando así las categorías dentro de la cirrosis. *Tabla 7.*

Sistema METAVIR. Esta clasificación indica un grado y un estadio, El grado informa sobre la actividad y el estadio indica la cantidad de fibrosis. Al grado se le asigna un número basado en la intensidad de las lesiones inflamatorias. En una escala de 0 a 3 o 4 (según el anatomatólogo). Cero indica ausencia de actividad y

3 o 4 indica actividad intensa. Para clasificar la fibrosis, también se utiliza una escala de 0 a 4, donde 0 es ausencia de fibrosis y 4 una cirrosis establecida. *Tabla 8.*

Tabla 6. Puntuación HAI o Índice de Knodell.

Puntuación HAI o Índice de Knodell		
I. Necrosis periportal +/- en puentes		
A.	Ninguna	0
B.	Necrosis “piecemeal” leve	1
C	Moderada necrosis “piecemeal” (afecta a <50% de la circunferencia de la mayoría de los tractos portales)	3
D	Marcada necrosis “piecemeal” (afecta a >50% de la circunferencia de la mayoría de los tractos portales)	4
E	Moderada necrosis “piecemeal” más necrosis en puentes	5
F	Marcada necrosis “piecemeal” más necrosis en puentes	6
G	Necrosis multilobular	10
II. Degeneración intralobular y necrosis focal.		
A	Ninguna	0
B	Leve (cuerpos acidófilos, degeneración en balón y/o focos de necrosis hepatocelular en <1/3 de lóbulos)	1
C	Moderada (afectación de 1/3 a 2/3)	3
D	Marcada (afectación de >2/3)	4
III. Inflamación Portal		
A	Sin inflamación	0
B	Leve (células inflamatorias en < 1/3 de tractos portales)	1
C	Moderada (1/3- 2/3)	3
D	Marcada (>2/3)	4
IV. Fibrosis.		

A	Sin fibrosis	1
B	Expansión de fibrosis portal	2
C	Fibrosis en puentes (porto-portales o porto-centrales)	3
D	Cirrosis	4

Tabla 7. Puntuación HAI modificada o Índice de Ishak.

Puntuación HAI modificada o Índice de Ishak.	
Gradación de la puntuación necroinflamatoria (puntuación máxima posible 18)	
A – Hepatitis de interfase periportal o periseptal (“piecemeal necrosis”)	
Ausente	0
Leve (focal, pocas áreas portales)	1
Leve-moderada (focal, la mayoría de las áreas portales)	2
Moderada (< 50% de tractos o septos)	3
Grave (> 50% de tractos o septos)	4
B. -Necrosis confluyente	
Ausente	0
Necrosis focal confluyente	1
Necrosis de la zona 3 en algunas áreas	2
Necrosis de la zona 3 en la mayoría de las áreas	3
Necrosis de la zona 3 y ocasionales puentes portal-central	4
Necrosis de la zona 3 y múltiples puentes portal-central	5
Necrosis panacinar o multiacinar	6
C.-Necrosis lítica focal, apoptosis e inflamación local	
Ausente	0
Un foco o menos por objetivo	1
Dos a cuatro focos por objeto	2
Cinco a 10 focos por objetivo	3
Más de 10 focos por objetivo	4
D.- Inflamación portal	

Ninguna	0
Leve (alguna o todas las áreas portales)	1
Moderada (alguna o todas las áreas portales)	2
Moderada/ Marcada (todas las áreas portales)	3
Marcada (todas las áreas portales)	4
Gradación de los cambios arquitecturales, fibrosis y cirrosis (Máxima puntuación posible 6)	
Sin fibrosis	0
Extensión de la fibrosis a algunas áreas portales, con o sin septos fibrosos cortos	1
Extensión de la fibrosis a la mayoría de las áreas portales, con o sin septos fibrosos cortos	2
Extensión de la fibrosis a la mayoría de las áreas portales, con ocasionales puentes porto-portales	3
Extensión de la fibrosis a la mayoría de las áreas portales, con ocasionales puentes porto-portales	4
Extensión de la fibrosis a la mayoría de las áreas portales, con ocasionales puentes porto-portales	5
Extensión de la fibrosis a las áreas portales, con puentes porto-portales y portocentrales	6
Marcada formación de puentes porto-portales y porto-centrales con ocasionales nódulos (cirrosis incompleta)	
Cirrosis probable o definida	

Tabla 8. Sistema METAVIR.

Sistema METAVIR		
“Piecemeal” necrosis	Necrosis lobular	Puntuación de actividad histológica
0 (ninguna)	0 (ninguna o leve)	0 (ninguna)
0	1 (moderada)	1 (leve)
0	2 (grave)	2 (moderada)
1 (leve)	0	1
1	2	2
2 (moderada)	0,1	2
3 (grave)	0,1,2	3
Puntuación de fibrosis		
0	Sin fibrosis	
1	Tractos portales aumentados en forma estrellada, pero sin formación de septos	
2	Aumento de los tractos portales con rara formación de septos	
3	Septos numerosos sin cirrosis	
4	Cirrosis	

- **Limitación de la biopsia hepática:**

La biopsia hepática sigue siendo el patrón oro en el estadiaje de la fibrosis hepática, sin embargo, esta técnica presenta varias limitaciones entre las que destacan:

- Una probabilidad elevada de error.*
- Un tamaño relativamente pequeño.* La muestra no es significativa de todo el tejido hepático y por lo tanto conlleva una disminución de la sensibilidad para el diagnóstico de fibrosis avanzada, siendo difícil de interpretar ya que el tejido que se obtiene solo representa la 1/50.000 parte de la masa total hepática.
- La existencia de morbilidad y un elevado coste económico,* ya que precisa ingreso hospitalario.

- d) *Proporciona un resultado estático*, cuando la fibrosis es un proceso claramente dinámico.
- e) La interpretación de la biopsia hepática está sujeta a *variabilidad inter e intraobservador*.
- f) Es un *procedimiento cruento*, no exento de *complicaciones*, aunque se realice de forma protocolaria y cuidadosa.
- g) *Presenta una baja aceptación por parte de los pacientes*.

- ***Complicaciones de la biopsia hepática:***

Las complicaciones se pueden dividir en complicaciones menores (que son las más frecuentes) como son las molestias localizadas y transitorias en el sitio de la punción, dolor que requiere analgesia en el 30% de los casos (205 moderado, y un dolor intenso que requiere opiáceos o analgésicos intravenosos en el 3%) o hipotensión transitoria por reacción vasovagal en el 2%; y complicaciones mayores que son infrecuentes y se reducen de forma importante al localizar la biopsia con control ecográfico. Se ha descrito hemoperitoneo, neumotórax, peritonitis biliar, punción de la víscera hueca (0,57%), hematomas intrahepáticos o subcapsulares, hemobilia, bacteriemias, sepsis y shock.

El 60% de las complicaciones ocurren dentro de las 2 primeras horas tras el procedimiento y el 96% dentro de las primeras 24 horas, llegando a requerir ingreso hospitalario hasta un 2-4% de los pacientes que sufren dichas complicaciones. Aunque la mortalidad está disminuyendo, no es despreciable, puesto que tiene lugar en 1 de 10.000 a 12.000 procedimientos.

14. Métodos incruentos de valoración de la fibrosis hepática:

Debido a las numerosas limitaciones de la biopsia hepática se han desarrollado una serie de procedimientos no invasivos para la determinación de los diferentes estadios de fibrosis.

Las ventajas de estos métodos no invasivos frente a la biopsia son que son lo mejor tolerados para los pacientes, son menos costosos y más fáciles para los clínicos ya que pueden repetirse de forma periódica.

Estos procedimientos se dividen principalmente en dos categorías: aquellos que utilizan la determinación sérica de distintos marcadores biológicos y aquellos basados en métodos de imagen.

- ***Pruebas basadas en la determinación sérica de marcadores biológicos:***

Los biomarcadores séricos tratan de establecer cuál es el estadio de fibrosis y la actividad inflamatoria equivalente a la información proporcionada por la biopsia hepática. Dicho marcador, idealmente, debe ser específico del hígado, ser fácil de realizar, ser reproducible, ser barato, estar mínimamente influido por alteraciones en la excreción urinaria y biliar, debe reflejar la fibrosis en todos los tipos de enfermedad hepática crónica, debe presentar una buena correlación con el contenido de la matriz extracelular y ser lo suficientemente sensibles para discriminar entre los diferentes estadios de fibrosis desde hepatitis crónica a cirrosis.

Actualmente se utilizan dos tipos de marcadores séricos de fibrosis hepática:

- Marcadores indirectos. Muestran alteraciones de la función hepática pero no reflejan directamente el metabolismo de la matriz extracelular. En la mayoría de las ocasiones utilizan determinaciones que realizan de forma sistemática en la práctica clínica de marcadores hepáticos.
- Marcadores directos. Reflejan cambios cualitativos y cuantitativos en las macromoléculas de la MEC, algunos de los cuales reflejan síntesis y degradación de colágeno.

Tabla 9. Marcadores serológicos indirectos de fibrosis hepática.

Clasificación	Nombre de marcador
Determinaciones clínicas de rutina	Proporción AST/ALT
	Recuento plaquetario
	GGT
	Índice de protrombina

Proteínas de fase aguda	Bilirrubina total
	Albumina
	Alfa-2-macroglobulina
	Haptoglobina
	Apolipoproteína

Tabla 10. Marcadores serológicos directos de fibrosis hepática.

Clasificación	Marcador	Observaciones
Componente de la MEC	Ácido hialurónico	Glucosaminglicano
	PIINP	Propéptido del colágeno
	Procolágeno I	Propéptido del colágeno
	Colágeno IV	
	Laminina	Glucoproteína
Enzimas reguladoras de la MEC	YKL-40	Quintinasa
	MMP	Enzima de degradación
	TIMPs	Inhibidores de enzimas de degradación de la MEC

- **Marcadores séricos indirectos de la fibrosis hepática:**

Entre los marcadores séricos indirectos de fibrosis más usados se encuentran.

- El *Cociente AST/ALT*. Logra diferenciar a los pacientes cirróticos de los que no son con una especificidad (E) del 96% pero con una sensibilidad (S) del 47% [valor predictivo positivo (VVP) y valor predictivo negativo (VPN) del 74 y del 88% respectivamente].

- *El Índice de Forns*. Es un modelo matemático simple basado en un análisis multivariable de diversos parámetros (edad, niveles séricos de colesterol total, GGT y recuento de plaquetas) que predice de forma precisa la ausencia de fibrosis significativa. El APRI (AST to Platelet Ratio Index) hace referencia al cociente entre los niveles de AST y de plaquetas.
- El *Fibrotest* se basa en una fórmula matemática que se calcula cambiando 5 marcadores bioquímicos indirectos de fibrosis [alfa 2 macroglobulina (A2MG), alfa 2 globulina (o Haptoglobina), Apolipoproteína A1, GGT, y bilirrubina total] ajustados a la edad y el sexo.

El *HGM1* y *HGM2* son dos simples índices de diagnóstico de la fibrosis hepática basados en datos de laboratorio que se realizan en la rutina. El HGM-1 incluye el análisis del recuento plaquetario, cifras de AST y glucosa sérica en ayunas y el HGM-2 se basa en el recuento plaquetario, cociente internacional normalizado (INR), fosfatasa alcalina (FA) y AST. *Ladero y colaboradores* determinaron que los valores de ferritina sérica y el colesterol están relacionados de forma independiente con el grado de fibrosis hepática y su inclusión en algunos test como el APRI o el King's score mejoran tanto la sensibilidad como la especificidad de estos últimos. *Tabla 11*.

Tabla 11. Principales marcadores biológicos de fibrosis hepática y grado de correlación con diagnóstico histológico de Metavir F3-F4.

Marcador	Parámetros	Correlación
AST/ALT	AST, ATL	
Fibro test	Edad, sexo, alfa2, macroglobulina, apoliproteína A1, Haptoglobina, bilirrubina, GGT	0.73-0.87
Forns	Edad, GGT, colesterol, plaquetas	0.81-0.86
ELF	Edad, AH, procolágeno III, TIMP-1	0.81
APRI	AST, plaquetas	0.78-0.88
SHASTA	AH, ALT, albumina	0.88
FIB-4	Edad, plaquetas, AST, ALT	0.74
Fibrospect	Plaquetas, colesterol, GGT, alfa 2 macroglobulina	0.83
Fibro Meter	Edad, urea, plaquetas, protrombina, AST, alfa 2 macroglobulina, AH	
HGM1	Recuento plaquetario, cifras de AST y glucosa sérica en ayunas	
HGM2	Recuento plaquetario, INR, fosfatasa alcalina (FA) y AST	
JHI	AST, plaquetas, albumina, consumo alcohol	0.79
King's score	Edad x AST x INR/plaquetas	
Ladero y cols	Ferritina sérica y colesterol (+ APRI o el King's score)	
Hepascore	Edad, sexo, alfa 2 macroglobulina, AH, bilirrubina, GGT	0.85>F2;0.94;F4

- ***Marcadores séricos directos de fibrosis hepática:***

En el proceso de fibrogénesis hepática se detectan cambios tanto cualitativos como cuantitativos en diversos componentes de la matriz extracelular. Entre los potenciales biomarcadores se encuentran los productos de la síntesis o degradación del colágeno, enzimas involucradas en la síntesis o degradación de la MEC, así como glicoproteínas, proteoglicanos y citocinas profibrogénicas. Los valores de dichas sustancias están aumentados en el tejido hepático con fibrogénesis activa. En casos de fibrosis moderada-grave, sus concentraciones aumentan también en sangre periférica, por lo que pueden utilizarse para diagnosticar de una manera sencilla la fibrosis hepática. Sin embargo, en los pacientes con una fibrosis hepática leve es posible que estas sustancias solo estén aumentadas en el hígado o su concentración en plasma sea muy baja, por lo que estos marcadores son particularmente útiles en pacientes con fibrosis avanzada (F3-F4), en los que la actividad fibrogénica suele ser mayor. *Tabla 12,13, 14.*

Tabla 12. Marcadores de fibrogénesis utilizados para estimar el grado de fibrosis hepática.

Fisiopatología	Marcadores séricos
Aumento de expresión citocinas fibrogénicas	TGFβ1
	FGF
	PDGF
Aumento de la síntesis del MEC	Colágeno I, IV y VI
	AH
	Laminina y Elastina
	Udulina
Aumento de las enzimas implicadas en el turnover de colágeno	Ykl-40
	TIMP-1
	MMP2
	PZ peptidasa
	Lisil oxidasa
Aumento de productos de degradación del colágeno	Prolil hidroxilasa
	PIINP
	Propéptidos colágenos III y IV

Tabla 13. Marcadores biológicos de fibrosis hepática.

Ventajas	Inconvenientes
No Invasivos	Solo válidos para fibrosis avanzada (F3-F4)
Sin error por observador	Validados en hepatitis C
Sin error de muestreo	Afectados por factores de confusión (VIH, fármacos)
Sin errores técnicos	Algunos parámetros de uso no habitual
Reproducibles	No adecuados para diferenciar el estadio de fibrosis F0 de F1
Útiles para el seguimiento	
Bajo coste	
Estadiaje objetivo	

Tabla 14. Utilidad clínica de la ET para la estimación de la fibrosis hepática.

Ventajas	Inconvenientes
No invasiva	No válido para la fibrosis intermedia (F2)
Sencilla	Interferencia de la inflamación y esteatosis hepática
Escasa variación individual (2%)	Interferencia de granulomas, calcificaciones o hemangiomas
Heterogeneidad de la fibrosis	Limitaciones en niños y pacientes obesos
Control interno	Variedad en diversos tipos de hepatopatía crónica

- ***Software específico de Resonancia magnética nuclear (RMN):***

La RMN ha sido evaluada para la detección de fibrosis hepática. Resultados preliminares han mostrado una buena precisión (78) así como una buena correlación con el grado de la disfunción hepática en un pequeño número de pacientes con cirrosis. Sin embargo, es una técnica en la que no se han definido los puntos de corte, por lo que no es útil actualmente en la práctica diaria.

- ***Software específico de TC (Fibro-TC):***

Los datos preliminares indican que esta técnica podría ser eficaz para determinar tanto el estadio como la distribución de la fibrosis hepática en pacientes con hepatitis crónica por VHC. La correlación entre la fibrosis hepática y las mediciones de Fibro-TAC es mayor en los pacientes que presentan una distribución homogénea de la fibrosis hepática.

15. Hepatopatía crónica por VHC en el paciente con enfermedad renal Crónica (ERC):

- ***Definición de ERC***

La Enfermedad Renal Crónica (ERC) se define como la disminución de la función renal, expresada por un Filtrado Glomerular (FG) inferior a 60 ml/min/1,73 m² o como la presencia de daño renal de forma persistente durante al menos 3 meses. Esto supone:

1) Lesión renal diagnosticado por método directo (alteraciones histológicas en biopsia renal) o de forma indirecta por marcadores como la albuminuria o proteinuria, alteraciones en el sedimento urinario o alteraciones en pruebas de imagen.

2) Alteración del FG (< 60 ml/min/1,73 m²). El FG permite clasificar a los enfermos en diferentes estadios (Tabla 1). La ERC es un problema de salud pública importante y se asocia a una importante morbi-mortalidad cardiovascular, así como a costes muy significativos.

Siguiendo los criterios de las Guías de Práctica Clínica KDIGO, los estadios en la ERC se llevan a cabo midiendo el FG. *Tabla 15.*

Tabla 15. Clasificación del Fallo Renal en función del filtrado glomerular. (Guías KDIGO).

La clasificación de la ERC se basa en la causa ^a y en las categorías del FG y de la albuminuria		
Categorías del FG		
Categoría	FG ^b	Descripción
G1	≥ 90	Normal o elevado
G2	60-89	Ligeramente disminuido
G3a	45-59	Ligera a moderadamente disminuido
G3b	30-44	Moderada a gravemente disminuido
G4	15-29	Gravemente disminuido
G5	< 15	Fallo renal
Categorías de albuminuria		
Categoría	Cociente A/C ^c	Descripción
A1	< 30	Normal a ligeramente elevada
A2	30-300	Moderadamente elevada
A3	> 300	Muy elevada ^d

Se habla de ERC a partir de una alteración del FG < 60 ml/min/1,73 m². Los estadios 4 y 5 se corresponden con la ERC. La diabetes mellitus representa la principal causa de Enfermedad Renal Crónica Terminal (ERCT), seguida por causas vasculares. (Informe de Diálisis y Trasplante 2013, Registro español de Enfermos renales). *Figura 6.*

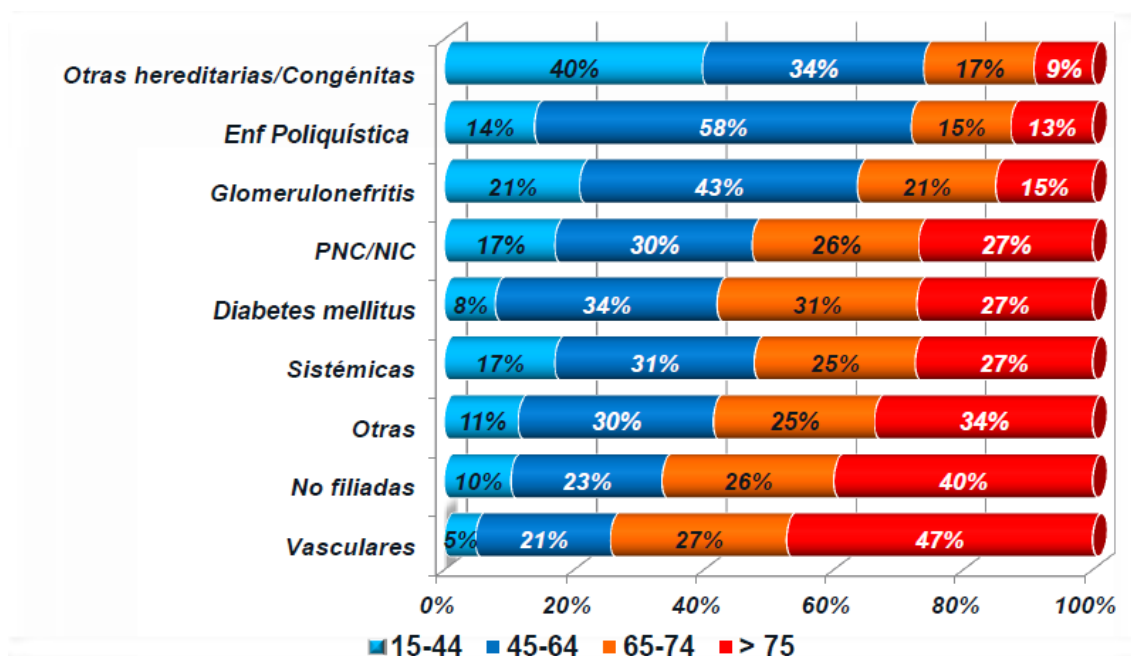


Figura 6. Principales causas de la Enfermedad Renal Crónica Terminal por grupos de edad. Registro Sociedad Española de Nefrología.

Aproximadamente 4 millones de personas padecen ERC en España. De ellas unas 50.909 están en tratamiento renal sustitutivo, la mitad en diálisis y el resto con un trasplante renal funcional (Informe de Diálisis y Trasplante 2012). Cada año unas 6.000 personas con insuficiencia renal progresan hasta la necesidad de seguir uno de los tres tipos de tratamiento sustitutivo renal (TSR): hemodiálisis (HD) diálisis peritoneal (DP) y trasplante renal (Tx). La prevalencia de la ERC aumenta de forma progresiva con el envejecimiento (el 22% en mayores de 64 años, el 40% en mayores de 80 años), y con otras enfermedades como la diabetes tipo 2, la hipertensión arterial y la arterioesclerosis. La ERC se presenta asociada a cuatro patologías crónicas de alta prevalencia como son la diabetes, hipertensión arterial, insuficiencia cardíaca y cardiopatía isquémica, según evidencia el registro oficial de Diálisis y Trasplante de la Sociedad Española de Nefrología de 2013.

16. Definición de la Enfermedad Renal Crónica (ERC).

Consiste en el deterioro progresivo e irreversible de la función renal. Cuando el filtrado glomerular desciende empiezan a aumentar la urea y la creatinina, así como otras moléculas denominadas toxinas urémicas, aunque estos pacientes pueden estar asintomáticos o bien presentar anemia, hipertensión arterial, poliuria y nicturia.

Cuando el filtrado glomerular cae por debajo del 15 % aproximadamente empiezan a aparecer los signos del síndrome urémico. La causa más frecuente de ERC en los países desarrollados es la Diabetes mellitus. Otras causas son la hipertensión arterial, que produce una sobrecarga de presión en todo el árbol vascular, ante lo cual los vasos responden fortaleciendo su capa muscular. La glomerulonefritis que consisten en una afectación glomerular acompañada de afectación vascular e intersticial renal en algunos casos. Clínicamente suelen manifestarse con proteinuria, hematuria y deterioro lento o rápido de la función renal (de días a años), la nefritis tubulointersticiales que son procesos que afectan de forma predominante al intersticio -una de las zonas del riñón- con destrucción de túbulos y vasos, lo cual da lugar a una isquemia y atrofia renal y procesos renales hereditarios entre los que destaca la poliquistosis hepato-renal autosómica dominante.

17. Enfermedad Renal y VHC:

- ***Relación entre insuficiencia renal y HVC.***

La enfermedad renal aumenta el riesgo de problemas cardiovasculares, ingresos hospitalarios y la mortalidad, a medida que empeora la función renal. (99). El filtrado glomerular es la mejor herramienta para evaluar la función renal. La creatinina sérica no se debería utilizar como única prueba de la función renal. Los pacientes que presentan enfermedad crónica renal e infección por VHC, tienen una progresión más precoz de su patología, se considera que la infección crónica por VHC, puede presentar directamente afectación de la membrana del glomerular con disminución del filtrado. Sin embargo, el filtrado glomerular es la mejor herramienta para evaluar la función renal, pues la creatinina sérica es un mal marcador de esta y no se debería utilizar como única prueba de la función renal [Documento de Consenso sobre la Enfermedad Renal Crónica]. Uno de los puntos importantes en la relación de enfermedad renal e infección por VHC, es el apartado de los pacientes en situación de hemodiálisis, ya que en los años 90 se consideraba la presencia de anticuerpos era más de un 30%, aunque una década después (2000), la reducción era de un 18%, debido a la realización sistemática de anticuerpos en sangre y hemoderivados (100).

Actualmente existen unidades médicas de aislamiento en los pacientes infectados, con el consecuente mejor control de estos pacientes y disminución significativa de las tasas de infección por el VHC (101).

Se considera que todos los pacientes con fallo renal que vaya a entrar en programa de diálisis o en lista de espera de trasplante renal, es mandatorio la realización de análisis de anti VHC y de ARN del virus, además de controles que se realizarán con una periodicidad de 6 meses, si continua en diálisis. Los pacientes que tengan fallo renal avanzado, es mandatorio recibir tratamiento libre de interferón, dependiente del genotipo del mismo.

Existe un incremento de padecer ERC en pacientes infectados por el VHC, comparado con pacientes sin esta infección. En el metaanálisis de Park H. et al (102) analizan 14 estudios en los que se analiza el riesgo de desarrollo de ERC en

pacientes con hepatitis C, de los cuales 9 eran estudios de cohorte y cinco de estudios cross-sectional. Todos de EEUU y de Taiwán. El seguimiento entre 2.1-7.8 años. En los estudios de cohorte se observa que los pacientes VHC tenían un 26% de riesgo de desarrollar ERC comparado con los no infectados. En los Cross-sectional este riesgo es del 23%. En el grupo de Taiwán el riesgo es de 1.28, mientras que en los de EEUU de 1.17. En otros metaanálisis anteriores encontraban mayor riesgo de desarrollar ERC pero no significativa (103).

La enfermedad por el VHC en pacientes dializados es mayor que en la población general. El estudio SHECTS (104) tiene como objetivos analizar el nivel de estudio y seguimiento de los pacientes con infección crónica por el virus de la hepatitis C (VHC) en hemodiálisis y determinar su prevalencia actual.

Tenemos datos de un estudio de cohorte multicéntrico nacional, realizado entre septiembre de 2010 y septiembre de 2011. Se envió un cuaderno de recogida de datos a todas las unidades de hemodiálisis de España para incluir información de la unidad y de la situación nefrológica y hepatológica de sus pacientes VHC-positivos, en el que participaron 187 unidades de hemodiálisis (71 hospitalarias). La prevalencia del VHC se estimó en el 5,6 %, se determinó que la causa más frecuente de enfermedad renal crónica fue la glomerular (25 %); del 72,1% de los pacientes que se había sometido a una biopsia renal, el 23,2 % presentaba una glomerulonefritis que podía estar asociada al VHC. No se disponía del genotipo en el 64 %, ecografía hepática en el 61,3 %, biopsia hepática en el 87,7 %. Un tercio era seguido en consulta de digestivo.

El 26,6 % había recibido tratamiento antiviral, con respuesta viral sostenida en el 35,3 % y suspensión del tratamiento en el 67,4 %.

Con los resultados obtenidos, se concluyó que la prevalencia del VHC en hemodiálisis en España había disminuido notablemente en la última década hasta ser similar a la media europea, la indicación de tratamiento antiviral es prioritaria, teniendo en cuenta la evolución de la enfermedad, que es más rápida que en individuos que tengan solo VHC, sin otra patología, al no recibir tratamiento, constituyen un número considerable, incluyendo los que tienen cargas virales bajas a ser candidatos a trasplante renal (104).

- ***Relación riñón y patología glomerular.***

Aunque la causa exacta de la infección por VHC en los pacientes con fallo renal crónico no está del todo aclarada, la glomerulonefritis crónica es la patología renal que más se asocia con la infección por el VHC. La crioglobulinemia tipo I membranoproliferativa glomerular, es la lesión glomerular más común. Otras lesiones como la nefritis aguda exudativa, glomerulonefritis endocapilar, glomerulonefritis fibrilar y nefropatía por inmunoglobulina A, son también enfermedades glomerulares, pero no se ha establecido una asociación con la infección por el VHC (19).

Generalmente la patología glomerular es silente, en los pacientes con glomerulonefritis membranosa, la proteinuria y la microhematuria son los síntomas más frecuentes, los pacientes que tienen hepatopatía por VHC la manifestación principal es el síndrome nefrótico, con sintomatologías típicas como macrohematuria e hipertensión arterial, el 50% de los pacientes cursan con insuficiencia renal moderada o severa, en un 25% de los pacientes pueden presentar síndrome nefrítico, con clínica característica de hipertensión arterial y hematuria.

La hipercoagulabilidad, disfunción tiroidea, déficit de vitamina D e hiperlipemia se pueden observar en el 80% de los pacientes que tienen infección por VHC, con glomerulonefritis membranosa en el contexto de un síndrome nefrótico, además en un 75% se da un aumento de transaminasas, pero solo el 25% presentan enfermedad hepática avanzada. Se considera que el daño renal se debe a depósitos de inmunocomplejos a nivel de membrana que se relacionan con los anticuerpos tipo IgM e IgG frente al VHC circulantes en sangre.

Tampoco está aclarado el mecanismo de daño renal ante la presencia de crioglobulinemia en los pacientes con infección crónica por VHC, probablemente por los inmunocomplejos circulantes específicamente IgM y C3, en los casos de glomerulonefritis membranoproliferativa. La enfermedad renal puede ocurrir secundaria a la inducción producida con la activación de un sistema complementario, con la proliferación celular e infiltración de fagocitos mononucleares con posterior alteración de la permeabilidad glomerular (105).

La prevalencia de glomerulonefritis membranoproliferativa en pacientes con infección VHC es 10 veces mayor que en la población general, y asociada a crioglobulinemia, el porcentaje aumenta más todavía (106).

La asociación entre VHC y el riñón puede ser múltiple. A través de crioglobulinas, vasculitis de pequeño vaso que producen IgM e IgG con activación del factor reumatoide, inmunocomplejos y depósito de amiloide. La glomerulonefritis más frecuente en los pacientes con VHC es la Glomerulonefritis membrano proliferativa, Crioglobulinemia tipo II, porfiria cutánea tarda.

Los depósitos de inmunocomplejos originan manifestaciones como púrpura, artralgia, astenia con afectación neurológica y renal. La causa más frecuente de daño renal por VHC es la nefropatía por crioglobulinemia y descende la eficacia de tratamiento antiviral clásico. En ausencia de crioglobulinemia el daño renal se debe en parte a la inflamación crónica o inflamación. En los pacientes VHC se observa una hiperreactividad linfocítica que puede explicar en parte las manifestaciones extrahepáticas.

- ***Mayor mortalidad en pacientes VHC con ERC***

La mortalidad es superior en pacientes con VHC y ERC que los que tienen función renal normal. Los pacientes con VHC tienen mayor riesgo de padecer diabetes, enfermedad vascular periférica que puede por sí mismo deteriorar la función renal (107).

- ***Los pacientes con VHC con ERC 4-5 deben ser prioritarios a la hora de ser tratados***

Los pacientes con VHC con ERC 4-5 deben ser prioritarios a la hora de ser tratados por las siguientes causas:

- a) La prevalencia de VHC es mayor en pacientes con ERC estadios 4-5 que en el resto de la población.
- b) La VHC aumenta el riesgo de ERC y la mortalidad asociada a la ERC.

- c) La mortalidad es superior en los pacientes en diálisis si se compara con los pacientes no infectados.
- d) Los pacientes trasplantados con VHC tienen menor supervivencia y los riñones de estos pacientes tienen peor supervivencia (108).
- e) La existencia de VHC incrementa el riesgo de hepatocarcinoma en pacientes trasplantados (61).
- f) El VHC incrementa el riesgo de desarrollo de GMN membrano proliferativa en el trasplante.

- ***Mortalidad de causa extrarrenal en el paciente HVC***

La mortalidad de causas extrahepáticas por 100.000 personas año fue de 671.6 en pacientes seronegativos y de 1054.8 en seropositivos. De las causas en seropositivos un 69.3% de causa no cáncer, similar al grupo no seropositivo (68.5%). El ratio de mortalidad de los pacientes seropositivos de causa no tumoral fue de 730.7 por 100.000 personas/año, mientras que en seronegativos es de 459,8. de manera que el ratio es de 1.38. Los pacientes seropositivos tienen un mayor riesgo de muerte cardiovascular y renal con un hazard ratio de 1.5 y 2.77 respectivamente comparado con seronegativos (109) La mortalidad de causa renal es del 0.47% en seronegativos, 0.92% en seropositivos con RNA indetectable y 1.48% en seropositivos con RNA detectable. (p<.01).

La patogénesis del daño renal es el depósito de inmunocomplejos en mesangio y subendotelio con activación del complemento, infiltración de células mononucleares y aumento de proteasas y prooxidantes que alteran la permeabilidad glomerular. Por este motivo estos pacientes pueden beneficiarse del tratamiento antiviral.

18. Nuevas terapias frente al VHC en pacientes con enfermedad renal:

- ***VHC en pacientes dializados:***

La enfermedad por el VHC en pacientes dializados es mayor que en la población general. El estudio SHECTS (104) tiene como objetivos analizar el nivel de estudio y

seguimiento de los pacientes con infección crónica por el virus de la hepatitis C (VHC) en hemodiálisis y determinar su prevalencia actual.

Tenemos datos de un estudio de cohorte multicéntrico nacional, realizado entre septiembre de 2010 y septiembre de 2011. Se envió un cuaderno de recogida de datos a todas las unidades de hemodiálisis de España para incluir información de la unidad y de la situación nefrológica y hepatológica de sus pacientes VHC-positivos, en el que participaron 187 unidades de hemodiálisis (71 hospitalarias). La prevalencia del VHC se estimó en el 5,6 %, se determinó que la causa más frecuente de enfermedad renal crónica fue la glomerular (25 %); del 72,1% de los pacientes que se había sometido a una biopsia renal, el 23,2 % presentaba una glomerulonefritis que podía estar asociada al VHC. No se disponía del genotipo en el 64 %, ecografía hepática en el 61,3 %, biopsia hepática en el 87,7 %. Un tercio era seguido en consulta de digestivo.

El 26,6 % había recibido tratamiento antiviral, con respuesta viral sostenida en el 35,3 % y suspensión del tratamiento en el 67,4 %.

Con los resultados obtenidos, se concluyó que la prevalencia del VHC en hemodiálisis en España había disminuido notablemente en la última década hasta ser similar a la media europea, la indicación de tratamiento antiviral es prioritaria, teniendo en cuenta la evolución de la enfermedad, que es más rápida que en individuos que tengan solo VHC, sin otra patología, al no recibir tratamiento, constituyen un número considerable, incluyendo los que tienen cargas virales bajas a ser candidatos a trasplante renal. [18]

Teniendo en cuenta las nuevas terapias frente al VHC, especialmente a pacientes dirigidos con enfermedad renal crónica, que en tratamientos previos con interferón, presentaban respuestas virales bajas, además de los efectos adversos, que en la mayoría de los casos nos obligan a suspender el tratamiento, presentamos datos de pacientes tratados con terapias libres de interferón, en sujetos sanos y con nefropatía tratados en nuestro centro en el período comprendido desde noviembre de 2015 hasta septiembre de 2016, haciendo especial énfasis en los que presentan insuficiencia renal, independiente del grado de la misma.

Estos datos se irán desarrollando en el contexto de nuestro estudio.

- ***Diferentes terapias frente al VHC en pacientes con fallo renal***

La eficacia del tratamiento ha mejorado espectacularmente en los últimos años. Los tratamientos clásicos con interferón alfa pegilado y ribavirina conseguían una remisión del 65% de los pacientes con genotipo 1, un 65% con el 4, un 70% con el 3 y un 85% con el 2 (European association for the study of the liver. EASL recommendations on treatment of hepatitis C). (J Hepatol 2011; 55: 245-64).

Esta primera generación fue remplazada en 2014 por los agentes antivirales directo que tenían como diana varias proteínas: Inhibidores de la proteasa NS3/4A, Inhibidores nucleotídicos y no nucleotídicos de la polimerasa NS5B, e inhibidores del complejo de replicación NS5A. La combinación de 2-3 de estos, con o sin ribavirina durante 8-24 semanas obtienen una negativización superior al 90%. Se han comenzado a tratar primero aquellos pacientes más severos que son aquellos con fibrosis extensa o cirrosis, vasculitis crioglobulinémica o en diálisis, que son los más coste efectivo (European association for the study of the liver. EASL recommendations on treatment of hepatitis C. J Hepatol 2015; 63: 199-236). Todos los pacientes trasplantados con HVC deben de ser tratados para reducir el riesgo de enfermedad hepática y extrahepática.

Actualmente disponemos de un amplio marco terapéutico con nuevas terapias, donde prácticamente podríamos erradicar todos los genotipos que involucran al VHC, además en un corto plazo dispondríamos de nuevos tratamientos considerados pangenotípicos.

El Sofosbuvir es el único de los tratamientos que disponemos en la actualidad considerado pangenotípico, este se recomienda en todos los genotipos virales sin modificación de dosis. En las infecciones por VHC con genotipo 2 se utiliza la asociación de Sofosbuvir y Ribavirina con ajuste de dosis de esta última a 200-400 mg cada 48 horas. En cuanto al genotipo 3 se recomienda cambiar Ribavirina por Daclatasvir o Ledipasvir. En el resto de genotipos se recomienda Sofosbuvir asociado con Simeprevir, Daclatasvir o Ledipasvir. El añadir Ribavirina con ajuste de dosis al tratamiento en el genotipo 1 es una decisión individualizada dependiendo de otros factores (carga viral alta, comorbilidades). Pacientes con genotipos 1 y 4 tienen otra alternativa terapéutica, en el que se incluyen Paritaprevir/r+ Ombitasvir + Dasabuvir, a los que se les puede añadir o no ribavirina dependiendo la presencia de cirrosis o no. Hay que tener en cuenta que existe contraindicación en los pacientes cirróticos, con descompensación. Un dato muy importante de esta terapia, son las interacciones

medicamentosas, en las que nos obliga a estar muy atentos por disminución del efecto terapéutico.

Debido a que no presenta apenas excreción renal, es una alternativa terapéutica en los pacientes con fallo renal, independiente del grado de daño renal, además se les puede añadir o no ribavirina con ajuste de dosis.

En estos pacientes, el manejo es individualizado y conjunto entre hepatólogos y nefrólogos, especialmente cuando el grado de insuficiencia renal es avanzada, (aclaramiento de creatinina < 30 ml/min/1,73 m², o con insuficiencia renal en estadio IV (CCR 15-29 ml/min/1,73 m²). Sofosbuvir no debe emplearse en este tipo de pacientes debido a su vía de excreción renal.

Recientemente ha sido aprobado por la FDA (Food Drug Administrations) y la EMEA (European Medicines Agency), un nuevo medicamento frente al VHC Grazoprevir y Elbasvir, para los genotipos 1 y 4. Los estudios de registro nos muestran unas respuestas similares a las otras terapias, además por su vía de excreción hepática y menos interacciones que otros, se podría considerar que es la principal terapia los pacientes con fallo renal y genotipos 1 y 4.

Teniendo en cuenta, estos tratamientos, actualmente es posible la curación frente al VHC, en pacientes con nefropatía independiente del grado de fallo renal, debido a la disponibilidad de medicamentos que no presenten excreción por vía renal, por ello no afectaría la vida media, ni los niveles séricos del medicamento.

Actualmente disponemos de un amplio marco terapéutico con nuevas terapias, donde prácticamente podríamos erradicar todos los genotipos que involucran al VHC, además en un corto plazo dispondríamos de nuevos tratamientos considerados pangenotípicos.

El Sofosbuvir es el único de los tratamientos que disponemos en la actualidad considerado pangenotípico, este se recomienda en todos los genotipos virales sin modificación de dosis. En las infecciones por VHC con genotipo 2 se utiliza la asociación de Sofosbuvir y Ribavirina con ajuste de dosis de esta última a 200-400 mg cada 48 horas. En cuanto al genotipo 3 se recomienda cambiar Ribavirina por Daclatasvir o Ledipasvir. En el resto de genotipos se recomienda Sofosbuvir asociado con Simeprevir, Daclatasvir o Ledipasvir. El añadir Ribavirina con ajuste de dosis al tratamiento en el genotipo 1 es una decisión individualizada dependiendo de otros

factores (carga viral alta, comorbilidades). Pacientes con genotipos 1 y 4 tienen otra alternativa terapéutica, en el que se incluyen Paritaprevir/r+ Ombitasvir + Dasabuvir, a los que se les puede añadir o no ribavirina dependiendo la presencia de cirrosis o no. Hay que tener en cuenta que existe contraindicación en los pacientes cirróticos, con descompensación. Un dato muy importante de esta terapia, son las interacciones medicamentosas, en las que nos obliga a estar muy atentos por disminución del efecto terapéutico.

Debido a que no presenta apenas excreción renal, es una alternativa terapéutica en los pacientes con fallo renal, independiente del grado de daño renal, además se les puede añadir o no ribavirina con ajuste de dosis.

En estos pacientes, el manejo es individualizado y conjunto entre hepatólogos y nefrólogos, especialmente cuando el grado de insuficiencia renal es avanzada, (aclaramiento de creatinina < 30 ml/min/1,73 m², o con insuficiencia renal en estadio IV (CCR 15-29 ml/min/1,73 m²). Sofosbuvir no debe emplearse en este tipo de pacientes debido a su vía de excreción renal.

Recientemente ha sido aprobado por la FDA (Food Drug Administrations) y la EMEA (European Medicines Agency), un nuevo medicamento frente al VHC Grazoprevir y Elbasvir, para los genotipos 1 y 4. Los estudios de registro nos muestran unas respuestas similares a las otras terapias, además por su vía de excreción hepática y menos interacciones que otros, se podría considerar que es la principal terapia los pacientes con fallo renal y genotipos 1 y 4.

Teniendo en cuenta, estos tratamientos, actualmente es posible la curación frente al VHC, en pacientes con nefropatía independiente del grado de fallo renal, debido a la disponibilidad de medicamentos que no presenten excreción por vía renal, por ello no afectaría la vida media, ni los niveles séricos del medicamento.

En fase de aprobación se encuentran nuevos antivirales pangenotípicos, en los que su rango de acción cubriría todos los subtipos de hepatitis, por lo que solo tendríamos que valorar su mecanismo de excreción para cierto tipo de pacientes con otras patologías añadidas, tales como los que presentan fallo renal.

¿Qué tratamientos están indicados en la ERC estadio 4-5?

Desde los tratamientos con interferón y ribavirina con los inconvenientes que conllevan por los efectos adversos, principalmente la anemia y la pobre respuesta de los mismos, no disponíamos de otras terapias para erradicar el VHC.

Actualmente se presentan nuevas alternativas para los pacientes que tengan insuficiencia renal y hepatitis crónica por VHC, debido a los análogos de nucleósidos/nucleótidos, que no se eliminan por vía renal y que independiente del daño renal que tenga el paciente, no afectaría la respuesta, y teniendo en cuenta los buenos resultados con estas terapias.

Simeprevir es un inhibidor de proteasas NS3/4a, esencial en la replicación del VHC, actúa frente a los subtipos 1, 4, 5 y 6, aunque su eficacia frente a estos 2 últimos no ha sido probada, en cuanto al genotipo 1a, presente un polimorfismo Q80K, que estando presente nos produce disminución de la respuesta virológica.

El simeprevir tiene una gran afinidad por las proteínas plasmáticas (>99,9%), principalmente la albúmina, esta no se altera en pacientes con insuficiencia hepática grave o pacientes con fallo renal, por lo que se cree que la fracción restante del simeprevir circulante es de un 0.01% tanto en individuos sanos, como en pacientes con insuficiencia renal grave, sin infección frente al VHC. El metabolismo se lleva a nivel hepático, a través del CYP3A, la eliminación del simeprevir se realiza por vía biliar, la eliminación por vía renal es insignificante, por lo que no se afectaría su metabolismo en pacientes con insuficiencia renal.

Daclatasvir es un inhibidor de proteínas estructurales con actividad pangenotípica, se metaboliza en el plasma y generalmente se excreta en las heces y menos del 10% se excreta en riñones, este medicamento se puede usar en pacientes con insuficiencia renal independientemente si es leve, moderada o severa.

Sosfobuvir es un inhibidor NS5B, análogo nucleótido que entra en la célula hepática para ser metabolizado, tiene actividad pangenotípica rápidamente se convierte en GS-331007, que es la droga activa, terminando en su producto activo GS-461203 (análogo uridin 5'trifosfato), que es eliminado exclusivamente por vía renal mediante filtración glomerular y secreción tubular activa, esto conlleva que en pacientes con fallo renal las dosis no se ajustan y se podría presentar por un lado mayor daño renal o toxicidad del

medicamento, por lo que está contraindicado el tratamiento en pacientes que presenten fallo renal.

Ombitasvir/paritaprevir/ritonavir y dasabuvir \pm ribavirina, son una combinación de medicamentos autorizados para el tratamiento frente al VHC específicamente para los genotipos 1 y 4.

Ombitasvir es un inhibidor de la proteína NS5A, la cual es fundamental para la replicación del VHC, debido a la eliminación biliar, lo cual hace que el 90% de la dosis se elimina por las heces y tan solo un 2% por la orina, este medicamento es útil en los pacientes con insuficiencia renal independiente del grado de disfunción renal.

Paritaprevir es un inhibidor de las proteasas, de las proteínas no estructurales (NS3/4a), mecanismo prescindible para la replicación del VHC, administrado con ritonavir, se elimina en un 88% por heces y un 8% por orina y su metabolismo se lleva a cabo por el CYP3A4/5.

Ritonavir es un inhibidor del CYP3A que aumenta la exposición de su sustrato paritaprevir, este no tiene ninguna acción antiviral frente al VHC.

Dasabuvir es un inhibidor no nucleósido de la polimerasa NS5B, su metabolismo es hepático y la eliminación es biliar, hasta un 95% y tan solo un 2% se elimina por orina, su metabolismo es a través del CYP2C8 y CYP3A4.

Actualmente esta combinación se está utilizando en los pacientes que tienen insuficiencia renal independiente del grado de disfunción debido a la ausencia de excreción renal.

Las recomendaciones actuales establecen que los pacientes con un FG superior a 30 ml/min deben tratarse como la población sin enfermedad renal. El tratamiento a todos los pacientes con ERC debe de ser ofrecido pues se reduce el riesgo de diabetes, enfermedad vascular, cáncer extrahepático y mejorar su calidad de vida (110)

Los Inhibidores de la proteasa NS3/4A e inhibidores del complejo de replicación NS5A no necesitan ajuste en la ERC. Así hay excelentes resultados con grazoprevir/ elbasvir en pacientes con ERC incluido en diálisis genotipo 1 con un 995 de éxito (C-Sufer) (111).

El estudio RUBI-1 (Paritaprevir/ritonavir, ombistabir, dasabuvir con o sin ribavirina) (112), se consiguieron eficacias del 100% en pacientes VHC genotipo 1 en pacientes con ERC estadio 4-5.

No se necesita corregir la dosis de simeprevir un inhibidor de la proteasa de segunda generación y daclastavir un inhibidor del NS5A.

El uso de la dosis estándar de sofosbuvir (400 mg/día) que es metabolizado por el riñón no está aconsejado con FG inferiores a 30 ml/min, incluido en la combinación Harvoni. La dosis reducida de sofosbuvir 20 g/día no consigue ser eficaz (Solo 40%) en pacientes en diálisis (1) El uso de dosis de 400 mg de sofosbuvir consigue mejores resultados en pacientes con FG inferiores a 30 ml/min pero con deterioro de la función renal de 20%. La dosis óptima de sofosbuvir debe ser determinada. Otro trabajo redujo la eficacia de la reducción de la dosis a 200 mg/día hasta un 75% (113) y otro hasta un 88% (113). El metabolito que se acumula es el SOF-007.

Los análogos Inhibidores nucleótídicos y no nucleótídicos de la polimerasa NS5B tienen como principal ruta de eliminación el riñón. Producen daño renal por alteración tubular, apoptosis y daño mitocondrial. En todos ellos debe medirse la función renal, especialmente el sofosbuvir. Deben de estudiarse los posibles efectos renales de todas ellas.

En pacientes con ERC debemos hacer (114):

- 1.- Determinación al menos anual del VHC en pacientes en diálisis.
- 2.- Evaluación no invasiva de la fibrosis hepática.
- 3.- Ajustar la dosis del tratamiento antiviral.

HIPÓTESIS

HIPÓTESIS

Los pacientes con virus C tienen una serie de peculiaridades que les hacen susceptibles a desarrollar una enfermedad renal crónica con mayor frecuencia que la población sin esta infección. La mayor incidencia de enfermedad renal puede deberse a varios factores relacionados con la propia infección como la carga viral y su tratamiento debería mejorar el filtrado glomerular, siempre y cuando los fármacos usados no sean nefrotóxicos.

OBJETIVOS

OBJETIVOS

- 1.- Determinar las diferencias analíticas entre pacientes con VHC positivo y negativo encontrados en una población representativa de nuestra actividad.
- 2.- Observar la prevalencia enfermedad renal crónica en los pacientes VHC y los genotipos más prevalentes en la población estudiada.
- 3.- Determinar la función renal de los pacientes con VHC positivo.
- 4.- Observar la proporción de insuficiencia renal en pacientes con VHC tratados en nuestro centro.
- 5.- Observar la relación de la insuficiencia renal en pacientes con VHC y su relación con la carga viral.
- 6.- Analizar las características diferenciales de los pacientes VHC con ERC frente a aquellos sin insuficiencia renal.
- 7.- Calcular la evolución de la función renal después del tratamiento del VHC con terapia libre de interferón.

Para el estudio de la influencia del VHC sobre la función renal, se han realizado diversos subestudios, encaminados a analizar las características epidemiológicas y bioquímicas de los pacientes con y sin VHC, determinando la importancia que la enfermedad renal tiene en ellos.

El primero de ellos se trata de observar las diferencias entre una amplia población de pacientes con ELISA positivo al VHC frente a otros VHC negativo. Para ello hemos realizado un estudio observacional, en condiciones de práctica clínica comparando medias o medianas de valores de laboratorio de pacientes con VHC positivo o negativo de la base de datos los laboratorios de la Fundación Jiménez Díaz. Se seleccionaron todos aquellos pacientes a los que se les hubiera determinado el anticuerpo frente al VHC durante un periodo de 6 meses. El periodo seleccionado fue de enero-junio de 2016. El objetivo principal de este parte del estudio es determinar la influencia de presentar o no el Ac frente al VHC en los marcadores de función renal, daño hepático, cinética del hierro, marcadores de metabolismo mineral y de riesgo cardiovascular. En él se incluyeron 6334 pacientes. Como algunas de las variables presentan valores perdidos nos quedamos con los pacientes que tienen recogido todas las variables que se quieren determinar por lo que el número de pacientes es de 5423 a los cuales se realizó una determinación analítica basal.

Para segundo de los estudios hemos seleccionado todos los pacientes con la determinación de VHC realizada por el ensayo ELISA en la Fundación Jiménez Díaz, en el mes de julio de 2016. Hemos analizado en ellos la función renal de una manera específica, para establecer las diferencias en esta entre pacientes con y sin VHC.

El tercero de los análisis ha sido encaminado a analizar la influencia de los diferentes tratamientos usados en el tratamiento del VHC libres de interferón sobre la función renal. Para ello se seleccionaron los primeros 383 pacientes tratados por el servicio de hepatología de la Fundación Jiménez Díaz. Se analizaron las funciones renales antes y después del tratamiento con el fin de observar la influencia de este sobre la función renal, así como las diferencias de los diferentes tratamientos.

El último de los análisis se ha centrado en observar la influencia del tratamiento frente al VHC en pacientes con un filtrado glomerular descendido, Para ello hemos seleccionado pacientes con un filtrado glomerular entre 60-90 ml/min, medidos frente a la fórmula CKD-EPI, para observar si son más susceptibles a la influencia de los diferentes tratamientos.

PACIENTES Y MÉTODOS

MÉTODOS

En la presente tesis se han empleado los siguientes métodos para alcanzar los objetivos propuestos.

A. Elastograma

Se ha empleado el elastograma o elastografía para el análisis de la fibrosis hepática, y por lo tanto la rigidez del tejido hepático. Este es un indicador validado para el cálculo y comparación de la salud hepática. A una mayor fibrosis, esto es un mayor reemplazo del tejido hepático funcionante por tejido fibroso colágeno, se identifica como un mayor daño.

El elastograma representa los índices de deformación generados por el hígado por la propagación de onda de cizalladura en función del tiempo (eje horizontal en milisegundos) y de la profundidad (eje vertical en milímetros). La escala de colores indica la señal de las deformaciones (compresión o dilatación). Las zonas de color negro corresponden a una deformación negativa y las zonas claras una deformación positiva. La franja negra a través de la imagen representa las deformaciones asociadas al paso de la onda de cizalladura que penetra cada vez más profundamente a medida que transcurre el tiempo.

Ha sido realizado por el FibroScan 402 ®. Fabricante: Echosens S.A.S.U. París. Francia. Clasificación: Clase IIa según la directiva 93/42/CE.

Las Prestaciones metrológicas. la magnitud que se mide, es la elasticidad, indicada como $>>E<<$.

Elasticidad: Mínima: 1.5 kPa.
 Máxima: 75 kPa.
 Precisión: + 0.5 kPa.

El FibroScan y su sonda conforman un dispositivo médico activo, no implantable que utiliza ultrasonidos. Está diseñado para medir la elasticidad del hígado de manera rápida, indolora y totalmente no invasiva. La técnica está basada en la elastografía impulsional vibratoria controlada. La sonda cuenta con características propias y cuenta con una aplicación diferente.

La sonda del FibroScan está construida por un transductor ultrasónico de un solo elemento fijado al eje de un transductor electrodinámico. Este último genera una

vibración transitoria que produce una onda elástica cizalladura. Dicha onda se propaga a través de la piel y los tejidos subcutáneos y finalmente llega al hígado. Durante la propagación de la onda de cizalladura, el transductor ultrasónico realiza una serie de adquisiciones (emisión/recepción) para medir su velocidad de propagación. La elasticidad del hígado se calcula a partir del valor de la velocidad de propagación de la onda de cizalladura.

Los resultados de la elasticidad se expresan en kilo pascales (kPa). Este valor de la mediana de todas las mediciones válidas efectuadas durante el examen. Si la medición realizada no es válida, no se recalculará a la mediana. Para obtener una evaluación fiable y representativa de la elasticidad del hígado. Se recomienda un mínimo de diez mediciones válidas. El intervalo intercuartil (IQR) se expresa en kilo Pascales (kPa). El IQR representa el punto en el cual se encuentran el 50% de las mediciones válidas alrededor de la mediana. Se recalcula de cada nueva medición válida.

El índice IQR/mediana expresado en porcentaje, es la relación entre el IQR y la elasticidad mediana. Se recalcula después de cada nueva medición válida. Dependiendo de los kilopascales del resultado podemos realizar clasificar la rigidez hepática en 4 grados. Esta clasificación del FibroScan según escala METAVIR es:

Fibrosis 0-1: < 7.6 kPa

Fibrosis 2: 7.6-9.5 kPa

Fibrosis 3: 9.6-12 kPa

Fibrosis 4: >12 kPa.

B.- Análisis de la Función Renal

Para analizar la función renal de los pacientes en el estudio, nos fijamos en la urea y creatinina. La urea fue medida por un autoanalizador ADVIA CENTAUR 2400 (Healthineers, Siemens) Los valores de referencia se encuentran en la *tabla 17*.

Los valores de creatinina sérica fueron determinados también en el autoanalizador ADVIA CENTAUR 2400, mediante la técnica del picrato alcalino. Los coeficientes de variación intra e interensayo son <3.1% y <4% respectivamente. La sensibilidad del método es 0.2 mg/dl. Los valores de referencia se encuentran en la *tabla 17*.

La función renal fue medida por las fórmulas Modification of Diet in Renal Disease-4 (MDRD4) y Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration (CKD-EPI). Estas fórmulas se expresan en ml/min

$$eGFR = 141 \times \min\{Scr/k, 1\}^a \times \max\{Scr/k, 1\}^{-1.209} \times 0.993^{Edad} \times 1.018 [\text{si mujer}] \times 1.159 [\text{Si negro}]$$

Formula para el calculo de CKD-EPI GFR(115)

$$eGFR = 186 \times (0.742 \text{ si mujer}) \times (1.212 \text{ si negro}) \times creatinina^{-1.153} \times edad^{-0.203}$$

Formula para el calculo de MDRD4 (115)

Siguiendo los criterios de las Guías de Práctica Clínica The Kidney Disease Improving Global Outcomes (KDIGO) (116) los estadios en la ERC se lleva a cabo midiendo el FG. *Tabla 16.*

Tabla 16. Clasificación del fallo renal en función del filtrado glomerular. (Guías KDIGO)

Categoría	FG (ml/min)	Descripcion
G1	≥90	Normal o elevado
G2	60-89	Ligeramente disminuido
G3a	45-59	Moderadamente disminuido
G3b	30-44	Moderada a gravemente disminuido
G4	15-29	Gravemente disminuido
G5	<15	Fallo renal
	Cociente Alb/Cr (mg/g)	
A1	<30	Normal a ligeramente disminuido
A2	30-300	Moderadamente elevada
A3	>300	Muy elevada

C.- Determinación del VHC

Técnica para la realización de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) a tiempo real de carga viral de la hepatitis C

El ensayo VERSANT VHC-1 RNA 1.0 (kPCR) es un ensayo de amplificación de ácidos nucleicos in Vitro para la cuantificación directa del ácido ribonucleico (RNA) de virus de la hepatitis C en plasma de individuos infectados, usando el Sistema molecular VERSANTTM kPCR. El ensayo puede cuantificar RNA de VHC sobre un rango de 15 – 1000000000 IU/ml.

Este ensayo se pretende para uso en conjunto con la presentación clínica y otros marcadores de laboratorio del estado de enfermedad como una ayuda en el manejo de individuos infectados con VHC. Los resultados de RNA de VHC se pueden usar como pronóstico de la progresión de la enfermedad y para monitorizar la eficacia de la terapia antirretroviral midiendo cambios de los niveles de RNA de VHC durante el curso de la terapia

Ensayo para la detección de anticuerpos IgG (inmunoglobulina G) frente al VHC

El ensayo VHC de ADVIA Centaur es un inmunoensayo indirecto tipo sándwich de doble lavado. La muestra se incuba con fase sólida, que contiene antígenos peptídicos del CHV recombinantes y sintéticos. Si la muestra contiene anticuerpos anti-VHC, se formarán complejos antígeno-anticuerpo. A continuación, se utiliza reactivo lumínico, que contiene anticuerpos monoclonales anti-IgG humana marcados con éster de acridinio, para detectar la IgG anti-HCV presente en la muestra.

D.- Factores de Riesgo Cardiovascular

Los métodos de medida de los factores relacionados con riesgo vascular fueron,

El ácido úrico se transforma por acción de la uricasa en alantoína y peróxido de hidrógeno. Bajo la acción catalítica de la peroxidasa, se forma un complejo coloreado a partir de peróxido de hidrógeno, 4-aminofenazona y TOOS (N-etil-N-[2-hidroxi-3-sulfopropil]-3-metilanilina). El nivel del complejo resultante es directamente proporcional al nivel de ácido úrico de la muestra. La absorbancia del complejo se mide a 545/694 nm como reacción de punto final.

El método del reactivo concentrado para albúmina (ALBc) se basa en el método de Doumas, Watson y Biggs, y utiliza una solución de verde de bromocresol (BCG) como colorante de unión.

El colesterol: Los ésteres del colesterol se hidrolizan por la acción de la colesterol-esterasa a colesterol y liberan ácidos grasos. El colesterol se convierte en colest-4-en-3-ona por la acción de la colesterol-oxidasa en presencia de oxígeno y forma peróxido de hidrógeno. Se forma un complejo coloreado a partir de peróxido de hidrógeno, 4-aminoantipirina y fenol bajo la acción catalítica de la peroxidasa. La absorbancia del complejo se mide a 505/694 nm como reacción de punto final.

El método para triglicéridos se basa en la reacción enzimática en tres pasos de Fossati con un punto final de Trinder. El procedimiento de un solo reactivo cuantifica los triglicéridos totales, incluidos monoglicéridos, diglicéridos y fracciones de glicerol libre. Los triglicéridos se transforman en glicerol y ácidos grasos libres por acción de la lipasa. A continuación, el glicerol se transforma primero en glicerol-3-fosfato por la acción de la glicerol-cinasa y después en peróxido de hidrógeno por la acción de la glicerol-3-fosfato-oxidasa. Bajo la acción catalítica de la peroxidasa se forma un complejo coloreado a partir de peróxido de hidrógeno, 4-aminofenazona y 4-clorofenol. La absorbancia del complejo se mide a 505/694 nm como reacción de punto final. Se determinaron mediante autoanalizador ADVIA CENTAUR 2400 (Healthineers, Siemens). Los valores de referencia de todos ellos se encuentran en la *tabla 17*.

E.-Cinética de Hierro

La valoración de la cinética del hierro se hizo mediante el análisis del hierro sérico, índice de saturación de transferrina y ferritina. También se determinó hemoglobina sérica. Todos ellos se midieron usando el autonalizador ADVIA CENTAUR 2400 (Healthineers, Siemens). Los valores de referencia se encuentran en la *tabla 17*.

El método de determinación del hierro se basa en que el hierro se libera de la transferrina en condiciones de acidez y se reduce a su estado ferroso para combinarlo con un cromógeno a fin de medirlo por colorimetría. En este procedimiento el hierro se mide de forma directa, sin pasar por una etapa de precipitación proteica y sin interferencias del cobre endógeno. Este método contiene concentraciones elevadas de

hidrocloruro de guanidina y detergente para evitar la precipitación proteica con el plasma y muestras con paraproteinemia. El hierro férrico se disocia de su proteína transportadora, la transferrina, en un medio ácido y se reduce simultáneamente a la forma ferrosa. A continuación, el hierro ferroso forma un complejo con la ferrocina, un indicador sensible al hierro, y produce un cromóforo coloreado que se absorbe a 571/658 nm.

El método para la transferrina (TRF) se basa en el trabajo de Heidelberger y Kendall modificado por Hellsing. La transferrina es la principal proteína sérica transportadora de hierro. La medición de la concentración de transferrina guarda relación con la medición de la capacidad total de fijación del hierro (TIBC) y es útil para evaluar el estado general del paciente con respecto al hierro. Las situaciones asociadas con concentraciones bajas o altas de TRF son las siguientes: Principios del procedimiento El método para la transferrina es un ensayo inmunturbidimétrico potenciado con polietilenglicol (PEG). La muestra que contiene transferrina humana se diluye de forma adecuada y se hace reaccionar la solución con antisuero específico para formar un precipitado que puede medirse mediante turbidimetría a 596/694 nm. Construyendo una curva patrón a partir de la absorbancia de los estándares, se determina la concentración de transferrina de la muestra.

La ferritina es una proteína macromolecular de suero de leche que funciona como el principal compuesto de hierro del cuerpo 1,2. Se compone de 24 subunidades en un conjunto esférico alrededor de un núcleo central de hierro. Existen dos formas de subunidades: una forma de ácido H y una forma de base L. Las distintas combinaciones de estas subunidades producen un conjunto de isoferritinas, con heterogeneidad electroforética e inmunogénica. Aunque son sintetizadas por todas las células humanas, las isoferritinas predominantes se componen principalmente de subunidades L y se producen en el hígado, el bazo y el plasma 3. Se ha probado que la ferritina puede ser un marcador de utilidad para la supervisión de los tratamientos con hierro 4. Se diluye la muestra y se hace reaccionar con un tampón que contiene partículas de látex recubiertas con anticuerpos específicos para ferritina. La formación del complejo antígeno-anticuerpo durante la reacción conlleva un aumento de la turbidez, cuyo grado se mide en función de la cantidad de luz absorbida a 658 nm. La concentración de ferritina de una muestra puede determinarse al construir una curva estándar a partir de de la

absorbancia de los estándares. La hemoglobina por método colorimétrico de DRABKIN (Cyanmethemoglobina)

F.- Metabolismo mineral

El estudio del metabolismo mineral se realizó mediante el análisis del calcio, fósforo y de la 25 vitamina D y parathormona séricos. El calcio y el fosforo fueron analizados usando el autoanalizador ADVIA CENTAUR 2400, mientras 25 vitamina D y parathormona (PTH) se usó método de electroquimioluminiscencia realizado en el autoanalizador Elecsys (Roche). Los valores de referencia se encuentran en la *tabla 17*.

Los valores de calcio sérico se determinaron mediante la técnica del arsenazo III. Los coeficientes de variación intra e interensayo son <1.2% y <2% respectivamente. La sensibilidad del método es 0.5mg/dl.

Los valores de **fósforo** inorgánico sérico se determinaron mediante la técnica del fosfomolibdato UV. Los coeficientes de variación intra e interensayo son <2.2% y <3% respectivamente. La sensibilidad del método es 0.3 mg/dl.

Los valores de vitamina D total (25(OH) vitamina D2 y D3) se determinaron por un método de electroquimioluminiscencia realizado en el autoanalizador Elecsys (Roche). Los coeficientes de variación intra e interensayo son <7.5% y <8% respectivamente. La sensibilidad del método es 3 ng/ml.

Los valores de parathoromona intacta PTHi se determinaron por un método de electroquimioluminiscencia realizado en el autoanalizador Elecsys (Roche). Utiliza un anticuerpo dirigido contra los aminoácidos 26-32 de la molécula y otro contra la zona 55-64. Debido a ello no detecta el fragmento amino-terminal, pero sí la PTH 1-84 y los fragmentos no 1-84. Los coeficientes de variación intra e interensayo son <2.5% y <3% respectivamente. La sensibilidad del método es 1.2 pg/ml.

G.- Marcadores de daño hepático

Los marcadores de función hepática se hicieron mediante la determinación de las transaminasas AST (glutamato-oxalacetato transaminasa), ALT/ALT (Alanina aminotransferasa) y GGT (Gamma glutamil transpeptidasa).

ALT/ALT cuya reacción se inicia mediante la adición de alfa-cetoglutarato como segundo reactivo. La concentración de NADH se mide por su absorbancia a 340/410 nm; la velocidad de la disminución de la absorbancia es proporcional a la actividad de la alanina-aminotransferasa.

La AST cataliza la siguiente reacción: AST l-aspartato + α -cetoglutarato glutamato + oxalacetato La ALT cataliza la siguiente reacción: ALT l-alanina + α -cetoglutarato glutamato + piruvato El piruvato formado (el oxalacetato es inestable y se transforma en piruvato), reacciona con la 2,4-dinitrofenilhidracina produciéndose, en medio alcalino, un compuesto coloreado que se mide a 505 nm.

La GGT se basa en el procedimiento descrito por L. M. Shaw y cols. En la reacción con un sustrato sintético (L- γ -glutamyl-3-carboxi-4-nitroanilida), la glicilglicina actúa como aceptor del residuo γ -glutamyl y se libera 5-amino-2-nitro-benzoato (ANB). El producto liberado tiene un máximo de absorción cercano a los 400 nm. La velocidad de formación se mide fotométricamente a 410/478 nm como ensayo cinético de orden cero.

El método para lactato deshidrogenasa (LDH) se basa en el trabajo de Wroblewski y LaDue y está optimizado conforme a las recomendaciones de la Deutsche Gesellschaft für Klinische Chemie (DGKC, Sociedad Alemana de Bioquímica Clínica). La LDH cataliza la conversión de piruvato en L-lactato que origina la oxidación de NADH a NAD. La velocidad de la oxidación, que es directamente proporcional a la actividad de la LD, se controla midiendo la reducción de la absorbancia a 340/410 nm.

Para medir coagulación se realizó una media del International Normalized Ratio (INR). Este factor se calcula por método coagulométrico. Todos ellos fueron medidos usando el autonalizador ADVIA CENTAUR 2400 (Healthineers, Siemens) Los valores de referencia se encuentran en la *tabla 17*.

Tabla 17. Parámetros bioquímicos, valores de referencia y sus respectivas unidades

Parámetros bioquímicos	Valores de referencia	Unidades
Creatinina	0,5-1,1	mg/dl
Ácido úrico	3,1-7	mg/dl
Albúmina	3,2-4,8	g/dl
Hierro	50-170	µg/dl
Ferritina	10-120	ng/dl
Transferrina	250-380	mg/dl
Calcio	8,7-10,4	mg/dl
Fósforo	2,4-5,1	mg/dl
Urea	10-40	mg/dl
ALT	10-49	UI/l
GGT	0-38	UI/l
AST	14-20	UI/l
PTH	10-70	pg/ml
LDH	Sup 45	mg/dl
Triglicéridos	Inf 200	mg/dl
Colesterol	Inf 200	mg/dl
Hemoglobina	12-15	g/dL
Plaquetas	150-450	10 ³ µL
INR	1-2	
Vitamina D 25-Hidroxi	20-50	ng/ml

ESTADÍSTICA

ESTADÍSTICA

El análisis estadístico de todos los resultados se realizó utilizando el software estadístico R versión 3.15. Lo primero que se comprobó fue que las muestras fueran normales (prueba de Kolmogorov–Smirnov), y en los casos en los que este supuesto se cumplió, se realizó un análisis comparativo de las medias utilizando el test paramétrico T-Student. En los casos en los que las muestras no eran normales, se realizó la prueba no paramétrica Wilcoxon. En cualquiera de los casos las diferencias se consideraron significativas cuando $p < 0,05$.

RESULTADOS

RESULTADOS

➤ ANÁLISIS DE RESULTADOS DE 6 MESES DE PACIENTES ANALIZADOS EN EL LABORATORIO DE LA FUNDACIÓN JIMÉNEZ DÍAZ

En el periodo de enero-junio de 2016 en el laboratorio de la Fundación Jiménez Díaz se analizaron 6334 pacientes en los que se determinó la serología frente al virus C de la Hepatitis (VCH). Se han analizado los valores encontrados, comparando las bioquímicas de los pacientes que presentaban o no el VHC. Como algunas de las variables presentan valores perdidos nos quedamos con los pacientes que tienen recogido el dato en todas las variables. De esta forma el número de pacientes es de 5423. De ellos 520 presentaron VCH y 4903 pacientes con el HVC negativo.

En las siguientes tablas se describen y se comparan los valores que presenta cada variable en el grupo de pacientes negativo y el grupo de paciente positivos. Las variables se describen mediante la media \pm la desviación estándar (DS), o mediante la mediana y el rango intercuartil (RIC), que se indica entre paréntesis. La razón para que algunas de las variables no se describan con media y DS, sino con mediana y RIC es la fuerte asimetría que presenta su distribución. Es distribución con tanto sesgo no es razonable utilizar medias sino medianas. De la misma forma las comparaciones relativas a las variables descritas con media y DS se han realizado con la prueba de la t de Student, mientras que las comparaciones relativas a las variables descritas con mediana y RIC se han realizado con la prueba de Mann-Whitney.

En el análisis se objetiva ausencia de diferencias en las variables que definen un deterioro de la función renal. Aunque es superior el filtrado glomerular medido por la fórmula CKD-EPI en los pacientes con VHC negativo, esta diferencia no es clínicamente relevante. *Tabla 18. Fig. 7.*

Tabla 18. Análisis de la Función Renal.

Variable	Ac VHC Positivo	Ac VHC Negativo	P
UREA	34.62 \pm 10.91	33.74 \pm 10.61	0.052
CREA	0.789 \pm 0.170	0.787 \pm 0.188	0.796
CKD.EPI	98.39 \pm 14.56	101.2 \pm 18.32	0.000

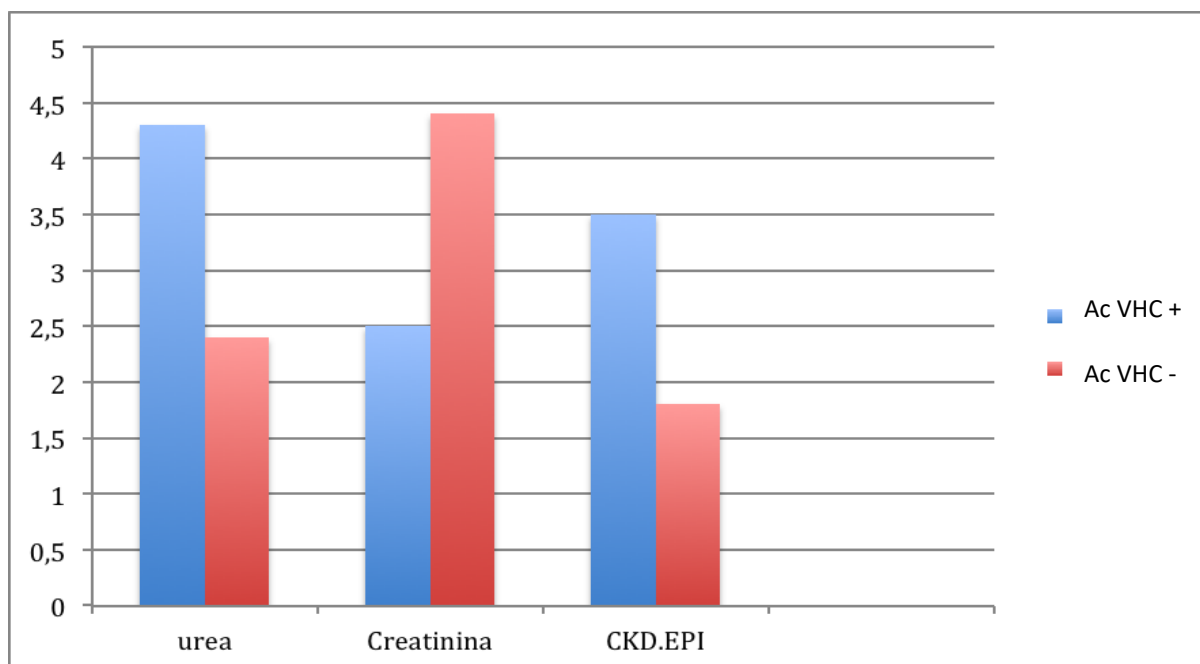


Figura 7. Análisis de la función renal.

Posteriormente se observa que no existen diferencias entre los pacientes VHC positivo o negativo en las variables úrico y triglicéridos. Los pacientes HVC positivo tienen una menor concentración de albúmina y de colesterol. Ambos parámetros se relación con una peor situación nutricional y hepática. *Tabla 19. Figura 8-9.*

Tabla 19. Factores de Riesgo Cardiovascular

Variable	Ac VHC Positivo	Ac VHC Negativo	P
URI	5.282 ± 1.625	5.236 ± 1.639	0.461
ALB	4.113 ± 0.503	4.271 ± 0.399	0.000
CHOL	162.7 ± 40.52	162.7 ± 40.52	0.000
TRI	114.4 ± 90.01	116.0 ± 88.76	0.616

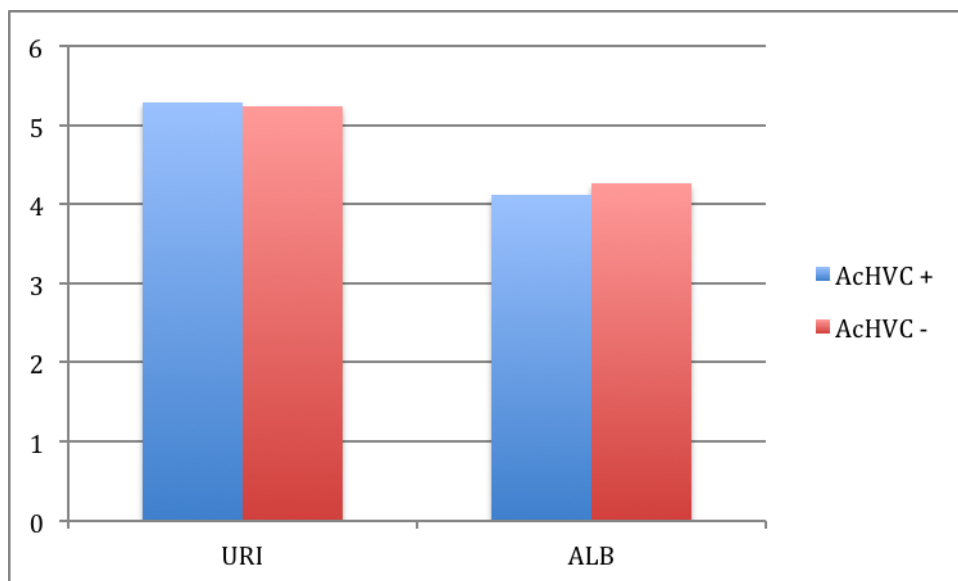


Figura 8. Factores de riesgo cardiovascular.

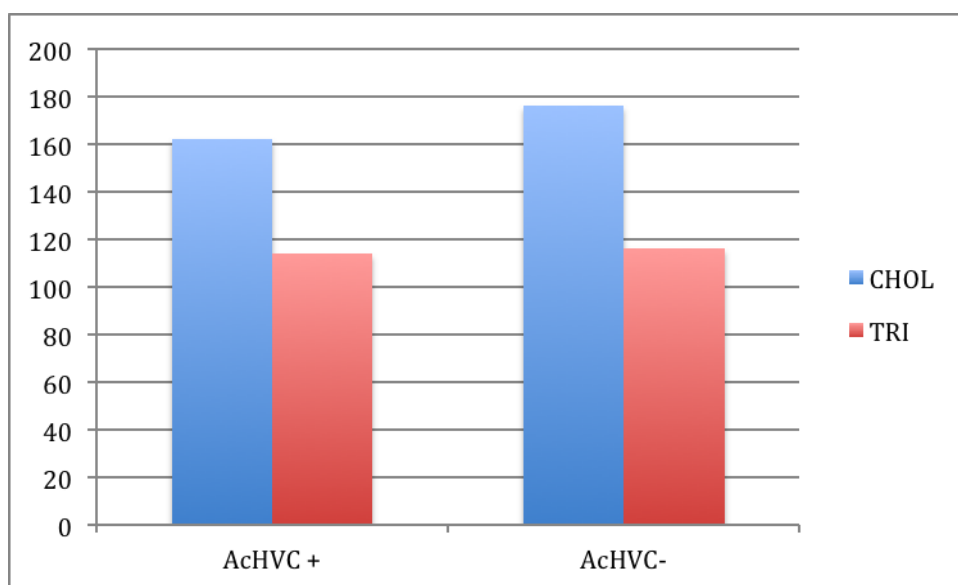


Figura 9. Factores de riesgo cardiovascular.

Los pacientes con HVC positivo tienen valores superiores de cinética de hierro, como son hierro sérico, índice de saturación de transferrina y ferritina. Igualmente, la hemoglobina sérica es superior en estos pacientes. *Tabla 20. Figura 10.*

Tabla 20. Cinética del hierro.

Variable	Ac VHC Positivo	Ac VHC Negativo	P
FE	103.3 ± 49.66	86.41 ± 39.16	0.000
ISATUFE	30.97 ± 16.21	27.41 ± 13.38	0.000
TRANSF	271.1 ± 53.41	256.6 ± 47.34	0.000
FERRI	131.5 (203.0)	99.00 (149.0)	0.000
HGB	14.25 ± 1.713	13.65 ± 1.681	0.000

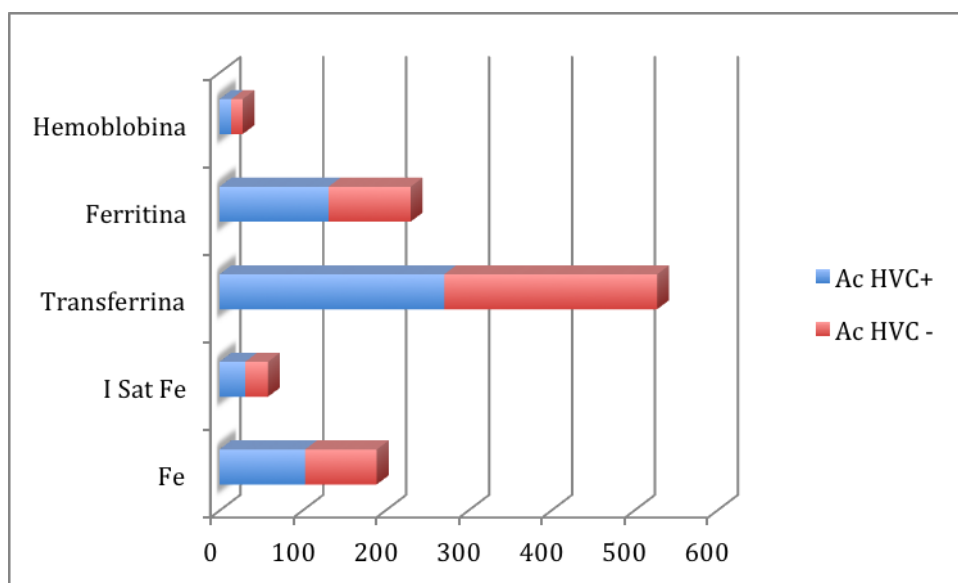


Figura 10. Cinética del hierro.

No se observan diferencias en los valores medios de los valores que miden las alteraciones del metabolismo mineral. Los valores medios de calcio, fósforo, vitamina D y parathormona son muy similares en los pacientes con VHC vs con los pacientes negativos. *Tabla 21. Figura 11.*

Tabla 21. Metabolismo mineral.

Variable	Ac VHC Positivo	Ac VHC Negativo	P
VIT-D	19.11 ± 9.824	18.16 ± 9.983	0.468
Ca	9.034 ± 0.589	9.147 ± 0.544	0.115
P	3.754 ± 1.074	3.629 ± 0.850	0.373
PTH	72.80 (105.4)	80.90 (104.5)	0.692

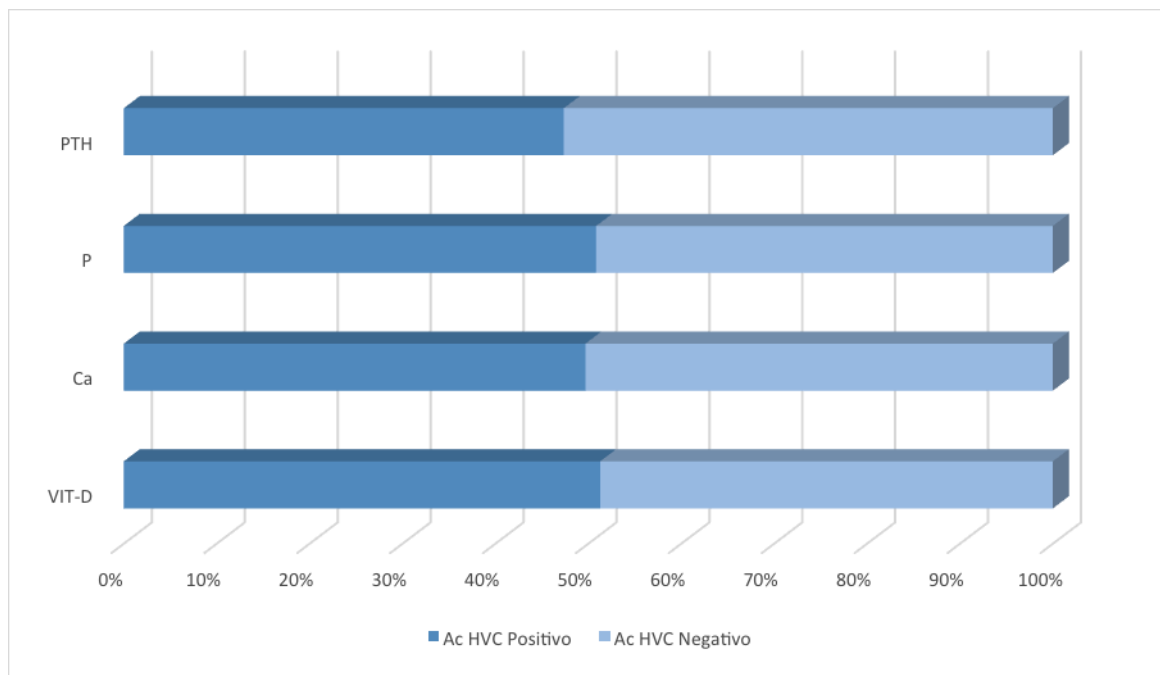


Figura 11. Metabolismo mineral.

Los pacientes VHC tienen mayor edad que los negativos de una manera significativa. Desconocemos el sexo de la población estudiada. Los valores de transaminasas son superiores en los pacientes con VHC positivo, así como la LDH. Los valores de plaquetas son inferiores en este grupo de pacientes. Sin embargo, no existen diferencias en el INR como marcador de coagulación en el paciente con VHC. *Tabla 22. Figura 12.*

Tabla 22. Marcadores de daño hepático.

Variable	Ac VHC Positivo	Ac VHC Negativo	P
EDAD	56.68 ± 13.85	46.59 ± 16.95	0.000
AST	37.00 (35.75)	23.00 (12.00)	0.000
ALT	37.00 (45.00)	22.00 (18.00)	0.000
GGT	47.00 (89.75)	25.00 (33.00)	0.000
LDH	395.6 ± 263.6	374.9 ± 209.6	0.032
PLAQ	203.0 ± 82.92	250.6 ± 79.88	0.000
INR	1.081 ± 0.318	1.069 ± 0.441	0.441

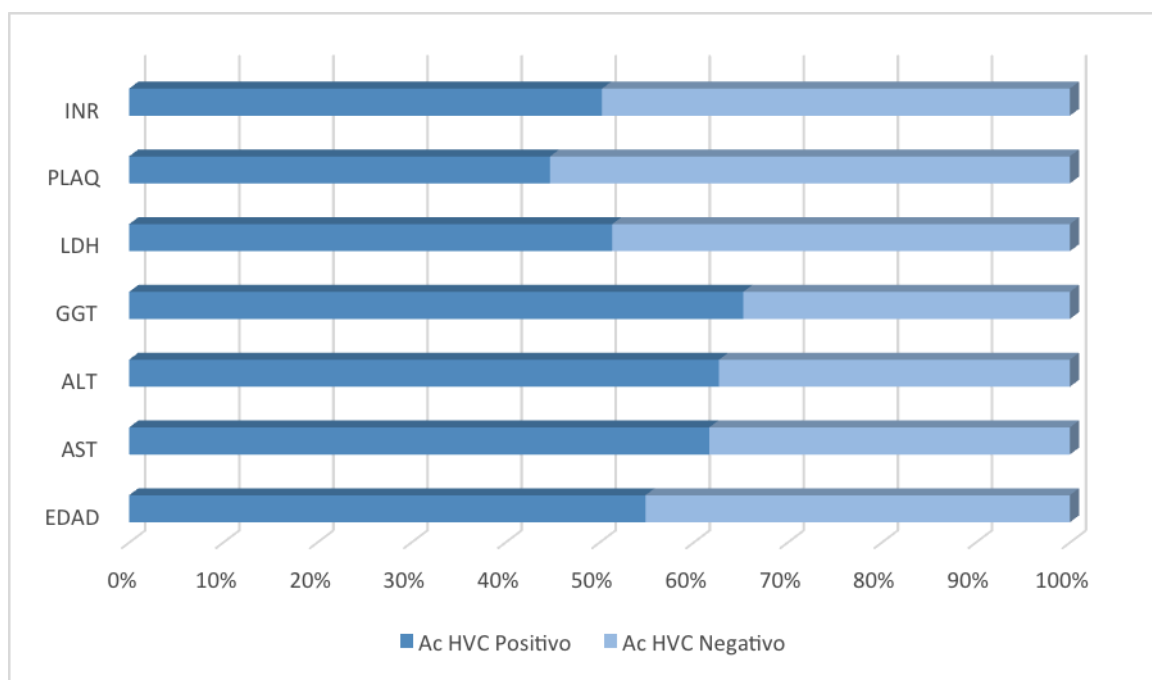


Figura 12. Marcadores del daño hepático.

➤ **DETERMINACIÓN DEL GRADO DE FUNCIÓN RENAL EN PACIENTES VHC POSITIVO FRENTE VHC NEGATIVO.**

Hemos seleccionado todos los pacientes con la determinación de HVC realizada por el ensayo ELISA en la Fundación Jiménez Díaz, en el mes de junio de 2016. Se analizó la función renal mediante el filtrado glomerular estimada por la fórmula MDRD4 (eGF). También hemos determinado parámetros clínicos y bioquímicos. La enfermedad renal crónica (ERC) se definió cuando el filtrado glomerular estimado fue inferior a 60 ml / min.

En 3832 pacientes fueron analizados en un mes en el laboratorio central de la Fundación Jiménez Díaz. De ellos presentaron VHC (+) 177 pacientes (4,6%), mientras que fueron negativos 3655 (95,4%) (Figura 13). La edad media en el grupo negativo fue de 46 ± 16 años, mientras que en el grupo VHC + fue de 57 ± 15 años ($p < 0,001$). Los criterios de padecer una enfermedad renal crónica fueron de 18 pacientes en el grupo de VHC (+) (10,16%), mientras que lo fueron 236 pacientes que no tenían el HVC (6,45%) ($p < 0,001$) (Figura 14). En el grupo VHC (+) fueron hombres un 56,5%, mientras que en el grupo de VHC (-) fueron un 41,7% ($p < 0,001$). Los pacientes con filtrado glomerular estimado inferior a 45 ml / min (estadio 3b o menos) fueron 9/18 en VHC (+) (50%)

mientras que el grupo HVC negativo fueron 147/236 (62,28%). Esta diferencia no fue significativa.

Por lo tanto, la prevalencia de ERC en pacientes con hepatitis C crónica es superior a la de pacientes con VHC negativa. La edad fue mayor en los pacientes con VHC + y eran en su mayoría varones. Esta diferencia fue significativa con el grupo de pacientes VHC negativo. Los pacientes con VHC + tienen menor incidencia de filtrado glomerular estimado reducido.

Pacientes a los que se les determinó una serología para el virus de la hepatitis C (VHC) en un período de 1 mes (n = 3832). *Figura 13-14.*

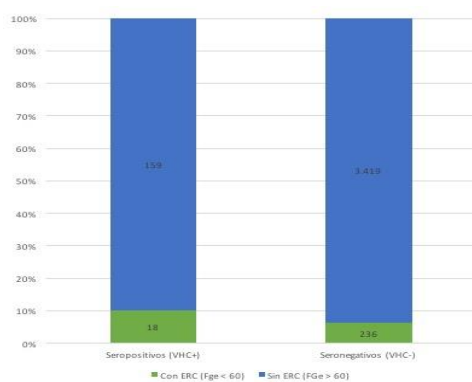


Figura 13.- Prevalencia de la enfermedad renal crónica determinada como filtrado glomerular estimado (FGe) < 60 ml/min/1.73m2, según la serología para VHC (n = 3832).

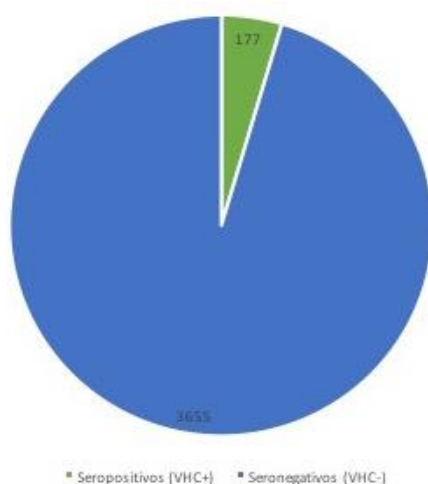


Figura 14. Determinación del grado de función renal en pacientes VHC +/- de la FJD en 3832 pacientes.

➤ *FUNCION RENAL EN PACIENTES TRATADOS EN LA FUNDACIÓN JIMENEZ DÍAZ*

Los pacientes con hepatitis C crónica tienen una mayor probabilidad de presentar insuficiencia renal crónica que la población general, con un odds ratio estimado de 1,21. Esto puede tener repercusiones en la selección de la terapia antiviral ya que no todos los tratamientos para el virus de la hepatitis C están indicados en la insuficiencia renal crónica. Además, los pacientes tratados parecen tener un menor riesgo de desarrollar insuficiencia renal crónica en el futuro y su desarrollo parece estar relacionado con una mayor carga viral que con el genotipo del virus de la hepatitis C. Se buscó determinar la prevalencia de insuficiencia renal crónica en los pacientes antes de recibir tratamiento para el virus de la hepatitis C y clasificarlos de acuerdo con la etapa de insuficiencia renal crónica.

Se han determinado los niveles de creatinina sérica, la tasa estimada de filtración glomerular calculada por la fórmula de Levey, el índice de fibrosis de elastografía transitoria (FibroScan) y el genotipo del virus en los 383 pacientes con hepatitis C de la Unidad de Hepatología antes de recibir terapia antiviral entre abril de 2014 y octubre de 2015. Los genotipos más prevalentes en orden descendente fueron: genotipo 1b (61,2%), genotipo 1a (17,5%), genotipo 3 (7,5%), genotipo 4 (5,9%), subtipo desconocido de genotipo 1 (4,7%), Subtipo de genotipo mixto (1,3%), genotipo 2 (1%) y genotipo 5 (0,8%).

De estos, el 38% presentó insuficiencia renal crónica (32% en estadio II, 3,5% en estadio IIIa y IIIb, 1% en estadio IV y 1% en estadio V). Entre los pacientes con insuficiencia renal crónica, el 93% tenía genotipo 1 virus de la hepatitis C (79% Genotipo 1b) y 21% tenían fibrosis grado F4 en FibroScan.

La terapia seleccionada para pacientes con insuficiencia renal crónica fue el sofosbuvir / ledipasvir (13%), ombitasvir / paritaprevir / ritonavir y dasabuvir con y sin ribavirina (11 y 6%, respectivamente) y simeprevir (1%).

La prevalencia de insuficiencia renal crónica en pacientes con tratamiento antiviral para el virus de la hepatitis C es mayor que en la población general (38% vs 9,1%), la mayoría con insuficiencia renal leve (tasa de filtración glomerular estimada superior a 60 mL /min/1.73m² o etapa de insuficiencia renal II). La mayoría de los pacientes

tenían genotipo 1b virus de la hepatitis C y sofosbuvir / ledipasvir fue el tratamiento más indicado. *Figura 15.*

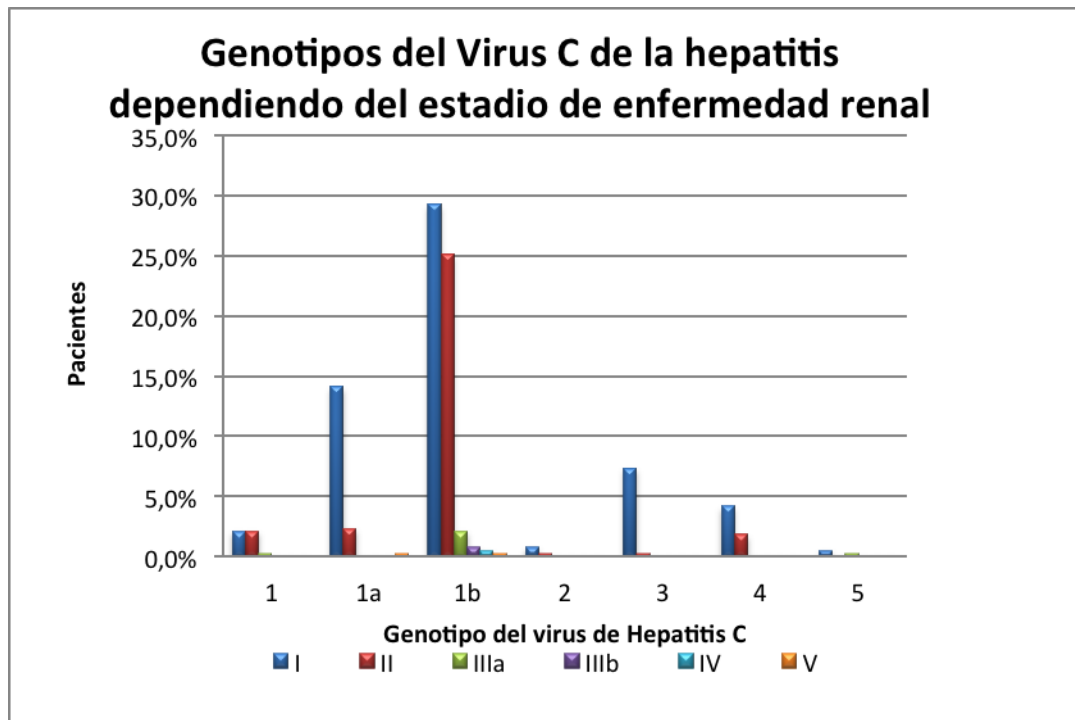


Figura 15.- Genotipos del virus C dependiendo del filtrado glomerular estimado y divididos por estadios según las guías KDIGO.

Cuando analizamos los datos bioquímicos recogidos observamos las siguientes diferencias. Hemos encontrado diferencias en la edad, la albúmina, hierro, carga viral y GPT.

La edad va aumentando a medida que desciende el filtrado glomerular. Parece que los pacientes con peor función renal son aquellos pacientes con VHC de mayor edad. Esa tendencia desaparece cuando el paciente está en diálisis, donde la edad baja de forma significativa.

Con la albúmina ocurre algo similar a lo encontrado con la edad. Los pacientes con peor filtrado tienen valores significativamente más bajos de albúmina, que corresponde también con mayor edad. Se va incrementando la desnutrición al deteriorarse la función renal. Sin embargo, el colesterol, que es otro parámetro de desnutrición permanece estable con el deterioro del FGe.

La ALT va descendiendo a medida que desciende el filtrado glomerular. Es bien conocido que los pacientes con ERC tienen valores más bajos de transaminasas, pero este dato también se cumple cuando tienen VHC positivo.

La carga viral de los pacientes con FG inferior a 45 ml/min tiene un descenso significativo. Desconocemos las causas de tal descenso. *Tabla 23.*

Tabla 23.- Valores cuantitativos medidos. Valores de la media \pm desviación estándar.

Variable	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3a	Grupo 3b	Grupo4	Grupo5	P
Edad	56.09	\pm 68.25	\pm 70.08	\pm 73.00		\pm 59.67	
	10.81	14.74	12.49	14.87		7.737	0.000
Plaq	184.6	\pm 166.3	\pm 134.2	\pm 202.2	\pm	180.2	\pm
	145.4	57.96	59.50	105.5		57.99	0.206
Alb	4.131	\pm 4.061	\pm 3.958	\pm 3.417	\pm	3.833	\pm
	0.434	0.438	0.523	0.643		0.427	0.003
INR	1.070	\pm 1.192	\pm 1.321	\pm 0.972	\pm	1.032	\pm
	0.246	0.641	0.446	0.043		0.075	0.097
Na	139.8	\pm 140.9	\pm 141.4	\pm 141.5	\pm	140.2	\pm
	11.61	3.175	2.142	4.037		1.643	0.772
K	4.307	\pm 4.394	\pm 4.469	\pm 4.283	\pm	4.640	\pm
	0.442	0.385	0.413	0.445		0.910	0.349
Fe	121.4	\pm 108.5	\pm 87.08	\pm 85.33	\pm	84.33	\pm
	52.89	44.27	36.45	43.84		30.69	0.002
ALT	85.41	\pm 82.37	\pm 56.08	\pm 56.00	\pm	26.00	\pm
	58.74	67.25	47.55	50.45		8.649	0.001
COL	155.8	\pm 160.5	\pm 156.7	\pm 149.0	\pm	159.5	\pm
	34.43	29.02	31.42	27.44		36.69	0.343
FIBROSCAN	15.28	\pm 16.47	\pm 19.42	\pm 28.26	\pm	13.12	\pm
	10.68	11.60	11.03	28.78		11.96	0.171
Carga viral	28.75	\pm 65.60	\pm 26.11	\pm 4.054	\pm	6.194	\pm
	49.67	411.6	32.19	5.346		9.214	0.014

Igualmente hemos analizado la evolución de la Función renal después del tratamiento antiviral, para ver las modificaciones con el mismo. *Tabla 24. Figura 16.*

Tabla 24.- Comparación total de la media de Creatinina y de FG entre Pre y Post tratamiento.

Variable	Pre	Post	Diferencia	P
Creatinina	0.888 ± 0.904	0.936 ± 0.850	0.048 ± 0.254	<0.001
FG	90.30 ± 19.57	86.05 ± 20.52	-4.255 ± 10.85	<0.001

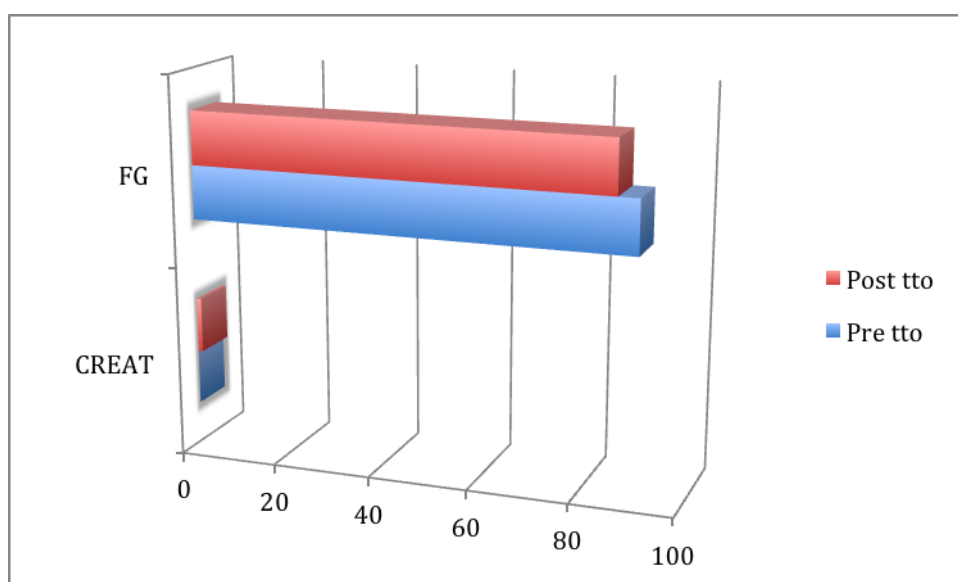


Figura 16. Comparación total de la media de Creatinina y de FG entre Pre y Post tratamiento.

Después del tratamiento antiviral se observa un leve deterioro de la función renal con aumento de la creatinina sérica, y descenso del filtrado glomerular. Si bien este descenso es estadísticamente significativo, parece carecer de significado clínico. Este descenso se objetiva tanto en FG entre 90-45 ml/min y por debajo de 45 ml/min. Es más acusada en aquellos pacientes con FG inferior a 45 ml/min. *Tabla 25. Figura 17-18.*

Tabla 25. Comparación de la media de creatinina y filtrado glomerular en estadios 2-3a y 3b-4.

Estadio	Variable	Pre	Post	Diferencia	P
2-3 ^a	Creatinina	0.823 ± 0.169	0.899 ± 0.186	0.076 ± 0.129	<0.001
	FG	82.84 ± 13.32	76.34 ± 10.88	-6.494 ± 9.937	<0.001
3b-4	Creatinina	1.489 ± 0.948	1.892 ± 0.452	0.403 ± 0.858	0.164
	FG	53.34 ± 21.73	34.11 ± 8.10	-19.23 ± 21.88	0.039

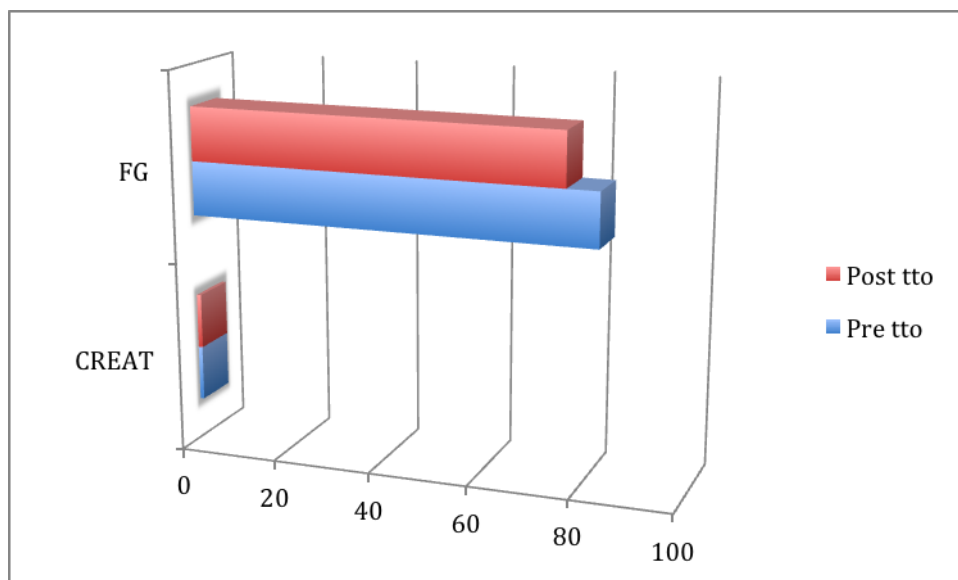


Figura 17. Estadio 2-3a.

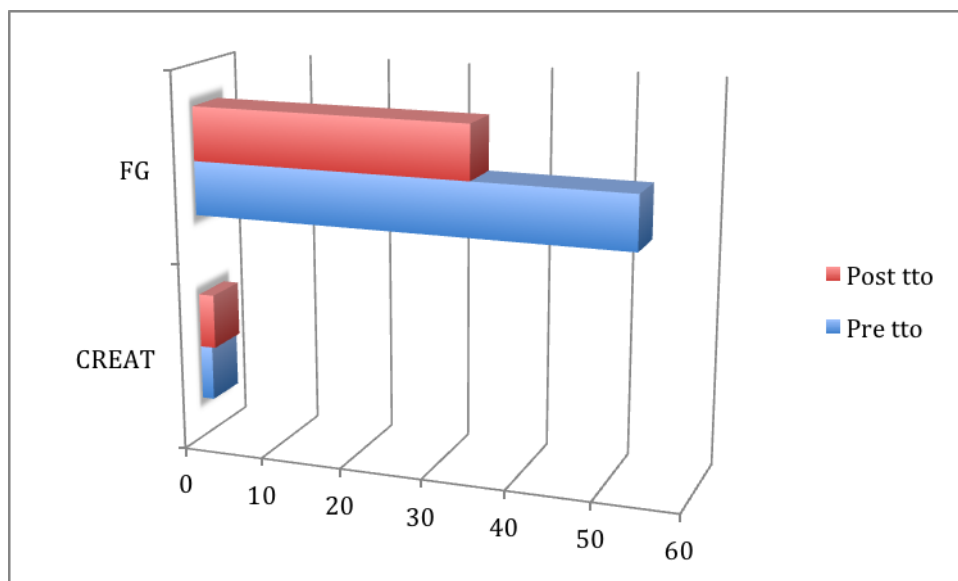


Figura 18. Estadio 3b-4.

➤ **TRATAMIENTO DE LA INFECCIÓN POR EL VIRUS DE LA HEPATITIS C CON TERAPIAS LIBRE DE INTERFERÓN EN PACIENTES CON INSUFICIENCIA RENAL CRÓNICA CON FILTRADO GLOMERULAR ESTIMADO ENTRE 60 Y 90 ML/MIN/1.73M². RESULTADOS DE PRÁCTICA CLÍNICA.**

Con posterioridad de un total de 470 pacientes tratados en nuestra Unidad con terapias libre de interferón para la infección crónica por el virus de la hepatitis C, se seleccionaron a los pacientes que tenían un filtrado glomerular estimado antes del tratamiento entre 60 y 90 ml/min/1.73m² y se determinaron sus características basales en cuanto a edad, sexo, genotipo, grado de fibrosis, enfermedad hepática compensada o no y la experiencia o no con tratamientos previos, así como los cambios en los valores de creatinina y filtrado glomerular estimado a las 12 semanas después del tratamiento.

Se encontraron 157 pacientes (33.40%) con un FGe basal entre 60 y 90 ml/min/1.73m². La edad media era de 68 ± 12 años, el 55% eran mujeres, los genotipos más frecuentes fueron el 1b (68.8%) y 1a (12.1%) y el 63% eran naive. En orden descendente, la distribución de la fibrosis fue: F4 (56.7%), F3 (20.4%), F2 (17.2%) y F0-F1 (5.7%). De los pacientes con un grado de fibrosis F4, el 84.3% tenían una enfermedad hepática

compensada. Se excluyeron 5 pacientes: 2 porque suspendieron el tratamiento antes del tiempo previsto de finalización por efectos secundarios y 3 por falta de seguimiento.

En el 48% de los pacientes se utilizó la combinación de ombitasvir/paritaprevir/ritonavir con dasabuvir, mientras que en el 52% restante se utilizaron tratamientos que incluían sofosbuvir combinado con ledipasvir, daclatasvir o simeprevir, con o sin ribavirina en ambos grupos. Se consiguió la negativización de la carga viral al final del tratamiento en el 100% de los pacientes, ocurriendo 2 recidivas (1.3%) a las 12 semanas. Éstas fueron en un paciente con infección por genotipo 1b, con fibrosis F4 y tratado con ledipasvir/sofosbuvir durante 24 semanas y en otro con infección por genotipo 1^a, con fibrosis F0-F1 y tratado con ombitasvir/paritaprevir/ritonavir con dasabuvir y ribavirina durante 12 semanas; ambos con enfermedad hepática compensada.

Los valores medios de FGe y creatinina basales fueron 78.08 ± 8.42 ml/min/1.73m² y 0.88 ± 0.17 mg/dl y a las 12 semanas tras el tratamiento 75.39 ± 14.00 ml/min/1.73m² ($p < 0.01$) y 0.91 ± 0.24 mg/dl ($p < 0.02$), respectivamente. Tras el tratamiento, 79 pacientes (52%) habían experimentado un descenso en su FGe basal de 78.07 ± 8.28 a 67.03 ± 11.30 ml/min/1.73m² ($p < 0.001$). La edad media en este grupo era de 71 ± 11 años, carga viral basal de 3127814 UI/ml y más de la mitad tenían un grado de fibrosis F4 (52%).

En términos generales y según el tratamiento utilizado, el FGe empeoró en el 53.2% de los pacientes tratados con sofosbuvir ($n = 73$) en comparación con el 46.8% de los que no utilizaron sofosbuvir ($n = 79$), pero este descenso fue desde 77.94 ± 8.06 a 73.47 ± 15.60 ($p < 0.01$) en el primer grupo y de 78.22 ± 8.79 a 77.17 ± 12.18 ml/min/1.73m² ($p = 0.34$) en el segundo grupo.

Sin embargo, sólo en 18 pacientes (11.8% del total) se observó un descenso del FGe por debajo de los 60 ml/min/1.73m² desde un FGe basal medio de 69.18 ± 8.11 a 51.86 ± 8.57 ml/min/1.73m² y por tanto, condicionando una progresión en cuanto al estadio de enfermedad renal. Este grupo de pacientes comprendían el 14% de los pacientes tratados con pautas que incluían sofosbuvir y el 11% de los que fueron tratados sin sofosbuvir. Tenían una edad media de 71 ± 11 años.

El 31.6% de los pacientes (52) mejoró el FGe de 77.01 ± 8.84 a 86.70 ± 11.22 ml/min/1.73m² ($p < 0.001$). Tenían una edad media de 64 ± 14 años, carga viral basal de

14935154 UI/ml y también más de la mitad tenían un grado de fibrosis F4 (58%). En los 25 pacientes restantes no se observó una variación en el FGe tras el tratamiento (16.5%).

Por lo tanto, podemos observar que:

- La prevalencia de insuficiencia renal con FGe entre 60 y 90 ml/min/1.73m² en este grupo de pacientes con infección crónica por el virus de la hepatitis C fue del 33.4%.
- En torno a un 50% de los pacientes presenta un deterioro en la función renal tras el tratamiento. En promedio, estos pacientes tienen una mayor edad y carga viral al inicio del tratamiento en comparación con los pacientes que mejoran la función renal. Este descenso es más significativo en los pacientes que fueron tratados con sofosbuvir (53%) vs con los que no (47%).
- Sin embargo, sólo en el 12% de los pacientes se observó un empeoramiento clínicamente significativo en cuanto a progresión de la insuficiencia renal según estadio de enfermedad (FGe < 60 ml/min/1.73m²). Estos pacientes tenían una edad mayor y un FGe basal menor que la media del total de los pacientes.
- El 14% de los pacientes tratados con sofosbuvir, sufre un empeoramiento en su insuficiencia renal de base tras el tratamiento vs el 10% de los que no son tratados con sofosbuvir.

DISCUSSION

DISCUSION

I. DIFERENCIAS ENTRE PACIENTES POSITIVOS PARA EL VHC Y SERONEGATIVOS

➤ Análisis de la Función Renal

La relación entre la infección crónica por el virus de la hepatitis C (VHC) y el riñón es recíproca:

Una infección por VHC de una mano aumenta el riesgo de insuficiencia renal (vasculitis crioglobulinémica, Inflamación que resulta en deterioro renal, diabetes Y enfermedad vascular) con un mayor riesgo de morbilidad y mortalidad y por otro lado, la insuficiencia renal, especialmente en la etapa 4-5, aumenta el riesgo de la incidencia de VHC (en diálisis) y del deterioro hepático en pacientes con trasplante renal (117). La infección crónica por el VHC no solo ocasiona daño en el hígado (1), sino que tiene influencia la sobre mortalidad extrahepática, si se compara con la infección por el virus de la hepatitis B (VHB)(118).

Se han descrito muchas manifestaciones extrahepáticas (119) relacionadas con la infección crónica por el VHC, que incrementan la morbilidad y mortalidad. Se incluyen enfermedades cardiovasculares, diabetes tipo 2 y resistencia a la insulina, disfunción neurocognitiva, vasculitis sistémica, Linfoma de células B no Hodgkin y enfermedad renal crónica (120).

El VHC puede causar enfermedad renal de cuatro maneras: (a) Depósitos glomerulares de complejos inmunes; (b) Invasión viral directa del parénquima renal; (c) Secundario a las complicaciones extra renales del VHC (Por ejemplo, hepáticas); Y (d) Nefrotoxicidad por fármacos utilizados para su tratamiento. Estos mecanismos a menudo interactúan entre sí en la patogénesis de varias afectaciones clínicas agudas y crónicas. La enfermedad renal crónica asociada al VHC puede atribuirse a la crioglobulinemia, forman complejos antígeno-anticuerpo viral y posiblemente un efecto citopático viral directo (121).

En hemodiálisis la incidencia de hepatitis por virus C es mayor que en la población general. En hemodiálisis, se observa una prevalencia del 13 %, con una alta variabilidad (1-70 %) (122), también incluso entre las unidades de hemodiálisis de un mismo país

(123)es menor del 5 % en el norte de Europa; alrededor del 10 % en el sur de Europa y Estados Unidos, y del 10-50 % y hasta el 70 % en muchos países en vías de desarrollo, incluyendo algunas zonas de Asia, Latinoamérica y norte de África (101). Se ha logrado disminuir la incidencia de la infección por el VHC a menos del 1-2 % en países desarrollados (124). En España, la prevalencia de la infección por el VHC en hemodiálisis en 1997-2001 se estimó en el 22 % (122), aunque según el último estudio realizado en 2013 la prevalencia del VHC en diálisis en España es del 5.6%(104). En los trasplantados renales, la prevalencia de la infección por el VHC varía entre el 7 y el 40 %, también con una amplia variabilidad geográfica y demográfica (125).

➤ *Factores de Riesgo Cardiovascular*

Diferentes estudios han observado que los pacientes con hepatitis C tienen un alto riesgo de morbilidad y mortalidad relacionadas con el hígado, principalmente debido a la progresión hacia la cirrosis hepática y sus complicaciones (81). Sin embargo, existen datos de la relación del VHC con manifestaciones extrahepáticas. Las personas infectadas por el VHC tienen riesgo de desarrollar trastornos relacionados con el sistema inmune, como crioglobulinemia y sus secuelas, incluyendo el linfoma no Hodgkin de células B, y las enfermedades autoinmunes sistémicas, todas las cuales surgen por el linfotropismo del VHC(126). Pero existen evidencias de que existe relación entre VHC y el riesgo cardiovascular (RCV).

La infección por VHC aumenta el riesgo cardiovascular en términos de aterosclerosis, lesión miocárdica, eventos CCV y mortalidad cardiovascular, especialmente en pacientes con mayor riesgo cardiovascular. Las alteraciones metabólicas ocasionadas por la infección por el HVC, el estado profibrogénico asociado con la infección, el daño hepático, así como potenciales mecanismos virales directos podrían explicar el vínculo informado entre la infección por VHC y el aumento del riesgo cardiovascular. Sin embargo, la heterogeneidad de los estudios en términos de diseño, características basales de las poblaciones, así como los métodos utilizados para la definición de los resultados cardiovasculares limitan la evidencia disponible(107). Ishizaka et al, reportaron por primera vez una asociación entre aterosclerosis carotídea e infección por VHC en una cohorte en 1992. En los sujetos japoneses que habían sido sometidos a una

ecografía de las arterias carótidas, encontraron una mayor engrosamiento de la íntima en aquellos con VHC (127) .

Butt y cols, observaron un riesgo significativamente mayor de enfermedad coronaria en sujetos con infección por VHC en comparación con sujetos no infectados en un estudio con más de 150.000 sujetos estadounidenses (128). El VHC es capaz de modular el metabolismo lipídico y la señalización de insulina, ocasionando una mayor prevalencia de diabetes e infiltración grasa del hígado. En este entorno clínico (5), estudios experimentales recientes demostraron que el VHC induce un aumento de los niveles hepáticos no sólo de triglicéridos, sino del colesterol y esfingolípidos, que están potencialmente involucrados en los mecanismos conducentes a la esteatosis inducida por el VHC y la lipotoxicidad (129,130). Entre los sujetos infectados con el VHC, la presencia de esteatosis fue un factor de riesgo independiente de aterosclerosis carotídea (131). A pesar de la relación con ateromatosis otros estudios han demostrado que los pacientes infectados por el VHC se caracterizan por un perfil favorable de lipoproteínas, con un LDL y VLDL bajos. Con estos datos podría ser la inflamación una de las razones de este riesgo cardiovascular aumentado.

En el presente estudio hemos observado que no existen diferencias entre los pacientes VHC positivo o negativo en las variables úrico y triglicéridos. Los pacientes VHC positivo tienen una menor concentración de albúmina y de colesterol. Ambos parámetros se relacionan con una peor situación nutricional y hepática. Pero al igual que otros estudios, no encontramos una alteración de los parámetros lipídicos que puedan ser causa de un mayor riesgo cardiovascular.

La base fisiopatológica de la correlación evidenciada entre la infección por VHC y la aterosclerosis no está completamente entendida. La infección crónica por el VHC ocasiona un estado inflamatorio que no sólo afecta al hígado(132). Los estudios han demostrado que los pacientes con infección crónica por VHC presentan un nivel más alto de IL-6 y TNF-alfa, INFγ e IL-2 y de la relación de citocinas proinflamatorias/anti-inflamatorias (133). Estas citocinas proinflamatorias pueden contribuir al desarrollo de la aterosclerosis a través de la mejora de la adhesión intracelular de moléculas aterogénicas, expresión de anticuerpos anti-endotelio, generación de estrés oxidativo y resistencia a la insulina (IR) (134). Lo que es más grave es que la fibrosis asociada a la cascada de las vías proinflamatorias y profibrogénicas generada en el hígado podría

promover la aterosclerosis carotídea (135). Además, se han aislado secuencias de ARN de VHC dentro de las placas carotídeas y esto a su vez puede sugerir la posibilidad de una infección activa de la propia placa carotídea (136). Por último, la esteatosis hepática, observada en la infección por VHC, y su asociación con la hiperhomocisteinemia son también factores predisponentes a la aterosclerosis (131). Aunque no se ha probado que la esteatosis por el VHC pueda causar ateromatosis de forma directa, al menos cuatro estudios encuentran, independientemente del síndrome metabólico, relación directa entre esteatosis y la ateromatosis (137). Por lo tanto, no es irracional pensar que este efecto se puede atribuir a la esteatosis también. Cabe mencionar que los pacientes con VHC tienden a tener un perfil lipídico más favorable posiblemente debido a la interacción directa del virión del VHC, que utiliza el receptor de LDL para infectar hepatocitos (138).

➤ *Cinética de Hierro*

La infección crónica por virus C se caracteriza por sobrecarga hepática de hierro, aumento de ferritina y de la saturación de transferrina. Esto ocurre en un 30-40% de los pacientes (139). La hepcidina modula la salida de hierro vía ferroportina y su almacenamiento en ferritina. Los pacientes con VHC crónica tienen disminuida la hepcidina (140).

Los datos clínicos sugieren que el hierro es un factor de comorbilidad para la progresión de la enfermedad tras la infección por el VHC. El hierro es esencial para una serie de procesos metabólicos fundamentales en las células y los organismos. La homeostasis del hierro de los mamíferos está estrechamente regulada y se mantiene a través de la acción coordinada de las redes sensoriales y reguladoras que modulan la expresión de las proteínas relacionadas con el hierro en los niveles transcripcional y/o postranscripcional. Los trastornos de la homeostasis del hierro han sido implicados en la patogénesis de las enfermedades infecciosas. Los virus, al igual que otros patógenos, pueden escapar al reconocimiento por el sistema inmunológico, pero necesitan hierro de su huésped para crecer y propagarse. La hepcidina es un péptido de 25 aa, presente en suero y orina humanos y representa la hormona peptídica clave, que modula la homeostasis del hierro en el cuerpo. Se sintetiza predominantemente por hepatocitos y su forma madura se libera en la circulación (141).

El carcinoma hepatocelular (CHC) se asocia con frecuencia a la sobrecarga hepática de hierro.(142) La esteatosis hepática, característica histológica del CHC, observada en el 40-80% de los pacientes, está relacionada con el aumento de la inflamación hepática, progresión a fibrosis hepática, respuestas terapéuticas deficientes a interferón α -viral y carcinogénesis hepática (143) La acumulación de hierro dentro del hígado puede contribuir a la enfermedad hepática. Por lo tanto, se ha considerado que es un mecanismo fundamental del desarrollo de CHC(144).

En nuestros resultados encontramos que los pacientes con VHC positivo tienen valores superiores de cinética de hierro, como son hierro sérico, índice de saturación de transferrina y ferritina. Igualmente, la hemoglobina sérica es superior en estos pacientes. Estos resultados son similares a los encontrados por la mayoría de los autores (145).

Por otro lado, el aumento del hierro hepático juega un papel deletéreo en el curso de la hepatitis C, favorece el desarrollo de fibrosis, cirrosis y posiblemente aumenta el riesgo de cáncer de hígado en la población general. En los pacientes en hemodiálisis la pérdida regular de sangre en el circuito de hemodiálisis, en la continua extracción de sangre de rutina para pruebas de laboratorio y en el intestino debido a enteropatía urémica, invariablemente produce deficiencia de hierro para la cual los pacientes son comúnmente tratados con preparaciones intravenosas de hierro. Los datos sobre los efectos del hierro intravenoso en los pacientes con hepatitis C en hemodiálisis son limitados y sugieren fuertemente que el hierro parenteral puede contribuir a la lesión hepatocelular. La sobrecarga de hierro es extremadamente prevalente entre la población de hemodiálisis. La sobrecarga de hierro y la toxicidad ha surgido como uno de los temas más controvertidos en el manejo de la anemia en pacientes en diálisis. Dado el conocido impacto del hierro en la promoción del crecimiento y la virulencia del VHC y la enfermedad hepática asociada, es necesario utilizar la terapia con hierro con cautela y monitorizar estrechamente los marcadores plasmáticos del metabolismo del hierro para evitar la sobrecarga de hierro (146).

➤ *Metabolismo mineral*

La pérdida de masa ósea se ha descrito como una complicación de la cirrosis de causa vírica y su prevalencia aumenta en los casos más graves(147) .Los niveles más altos de factor de necrosis tumoral alfa soluble en suero (TNF) y los niveles más bajos de 25-hidroxi vitamina D (25OHD) (148) e IGF-I en las etapas más avanzadas de Child-Pugh (149), pueden contribuir a la baja densidad mineral ósea encontradas en los pacientes con enfermedad más grave. Los trastornos óseos se han asociado claramente con la cirrosis per se, independientemente de su causa. En pacientes con hepatopatía por VHC y otras hepatitis virales, el tratamiento empleado puede considerarse también como un factor de confusión al evaluar las complicaciones óseas. La terapia de combinación para los pacientes HVC con interferón-a (INF-a) más ribavirina ocasiona una pérdida de la masa ósea después de 12 meses(150). Pero otros autores han encontrado también un aumento de la masa ósea después del tratamiento con INF-a (151).

Por otro lado, la densidad mineral ósea y las alteraciones del metabolismo óseo en pacientes con hepatitis C no cirrótica no han sido bien estudiadas. Resulta polémica si la infección crónica por el VHC en ausencia de cirrosis o tratamiento viral es un factor de riesgo para el desarrollo de la enfermedad ósea.

La reducción de la actividad física asociada con una mayor inmovilización prolongada en los pacientes VHC en comparación con controles puede influir en que el contenido mineral óseo (CMO) alterado. Estudios con pacientes con baja o nula actividad física como hemipléjicos (152), han demostrado la asociación entre las actividad física y el contenido mineral óseo del fémur bajo. El efecto es probablemente debido a un aumento del número de Osteoclastos y una disminución de la población de osteoblastos (153).

En el presente estudio no se observan diferencias en los valores medios de los valores que miden las alteraciones del metabolismo mineral. Los valores medios de calcio, fósforo, vitamina D y parathormona son muy similares en los pacientes con VHC vs con los pacientes negativos. La deficiencia de vitamina D en la disfunción hepática ha sido relacionada con la baja densidad ósea de estos pacientes. Una correlación directa entre la gravedad de la fibrosis hepática y el bajo CMO se ha descrito en estos pacientes (154).

Algunos autores han demostrado que los pacientes no cirróticos con VHC no presentan anomalías clínicamente relevantes en los marcadores óseos y de las hormonas calciotrópicas (155), como si han observado otros autores (156).

Las concentraciones medias séricas de 25-OHD se consideraron suficientes en pacientes con hepatopatías crónicas. En pacientes con hepatopatía crónica no cirrótica no hubo diferencias significativas en los valores de 25-OHD comparado con los controles (155).

➤ *Marcadores de daño hepático*

No existen muchos trabajos que analicen la situación de las transaminasas en el paciente con HVC. La elevación de estas es un común denominador de la definición de la enfermedad. Sin embargo, teniendo en cuenta que el paciente con enfermedad renal tiene los niveles de transaminasas más bajo, nos ha parecido interesante evaluar estas encimas. De los pocos trabajos que analizan los valores de transaminasas en pacientes con VHC, se encuentra uno, de un grupo español, en 1991 que objetiva ese aumento. En este trabajo la incidencia de anticuerpos anti-VHC en 1.918 donantes de sangre de Cantabria fue del 0,31%. Tomando un nivel de 80 U / L ALT como punto de vista, 0,21% de las muestras con valores más bajos corresponden a anti-VHC casos positivos, frente al 6,25% de las muestras por encima de esa cifra. Dentro de los donantes con ALT superior a 80 U / L, se establecieron perfiles virales y no virales a partir de criterios bioquímicos, siendo su frecuencia de positividad anti-VHC de 22,22% y 0%, respectivamente(157). Si es bien conocido que el tratamiento del VHC reduce los niveles de transaminasas (158).

En el presente trabajo los valores de transaminasas son superiores en los pacientes con VHC positivo, así como la LDH. Los valores de plaquetas son inferiores en este grupo de pacientes. Sin embargo, no existen diferencias en el INR como marcador de coagulación en el paciente con VHC.

La infección por el virus de la hepatitis C (VHC) se asocia con un aumento del riesgo trombótico. Varios mecanismos están involucrados, incluyendo daño endotelial directo por el virus del VHC, activación del factor tisular, alteración de la fibrinólisis y aumento de la agregación plaquetaria y activación. En estadios avanzados, la infección

crónica por HCV puede evolucionar a cirrosis hepática, una condición en la que las alteraciones en la microcirculación portal también pueden conducir en última instancia a la activación de la trombina, la agregación plaquetaria y la formación de coágulos. Por lo tanto, en la enfermedad hepática avanzada del VHC hay una mayor prevalencia de fenómenos trombóticos en las radículas de la vena porta. El aumento de la formación de trombina puede activar las células estrelladas hepáticas y promover la fibrosis hepática. Además, los cambios isquémicos derivados de la oclusión vascular por los microtrombos favorecen la llamada extinción parenquimatosa, un proceso que promueve el colapso de los hepatocitos y la formación de tramos fibrosos gruesos. Estas razones pueden explicar por qué la infección avanzada por VHC puede evolucionar más rápidamente a la enfermedad hepática terminal que otras formas de cirrosis. (159). Como era de esperar nuestros pacientes presentaron un INR normal, puesto que solo las fases avanzadas de cirrosis ocasionan alteración de la coagulación.

II. FUNCIÓN RENAL EN PACIENTES VHC + FRENTE VHC -.

Haciéndose eco de observaciones epidemiológicas, existe una estrecha relación entre la infección por el VHC y enfermedad renal crónica (ERC). Mientras que en la literatura actual algunos resultados no encuentran una asociación positiva entre VHC y ERC (160,161), aunque en otros si existe (162,163).

En un metaanálisis reciente realizado por Li et al en el que se analizan un total de 22 artículos proporciona una fuerte evidencia del riesgo significativo de un incremento de la incidencia de desarrollar ERC en pacientes con infección por VHC (164). Observan un menor FGe y un mayor tiempo de exposición al VHC incrementa el riesgo de desarrollar ERC. Es de importancia la clínica para elucidar los mecanismos moleculares subyacentes a la infección por el VHC y su relación con el desarrollo de ERC. Es importante destacar que el tratamiento de la infección por el VHC en pacientes con ERC sigue siendo un reto.

En nuestro estudio la prevalencia de ERC en pacientes con VHC es superior a la de pacientes con VHC negativa. La edad fue mayor en los pacientes con VHC positivo y eran en su mayoría varones. Esta diferencia fue significativa con el grupo de pacientes VHC negativo.

Pero otros metaanálisis han encontrado resultados similares al de Li et al. Demostraron un mayor riesgo para el desarrollo de ERC en pacientes infectados por el VHC en comparación con pacientes no infectados (102,165).

III. TRATAMIENTO DEL VHC Y SU RELACIÓN CON LA FUNCIÓN RENAL

Las decisiones sobre el tipo de tratamiento y la duración usado en la práctica clínica se basan fundamentalmente en el genotipo del HVC del paciente, la carga viral y el estado de la enfermedad hepática según las pautas de guías de actuación como las AASLD, así como la disponibilidad de DAAs, aprobados en cada centro. Basado en la diversidad genética, este virus se clasifica en siete genotipos, 97 subtipos (incluidos 84 confirmados y 13 asignados provisionalmente), y más de 20 linajes que muestran diferencias de nucleótidos equivalentes a nuevos subtipos pero no asignados (166). Los diferentes genotipos de VHC pueden diferir tanto en la progresión de la enfermedad como en la respuesta a terapias antivirales, (167) y VHC muestran patrones únicos de distribución geográfica. En general, los genotipos 1, 2 y 3 son ubicuos, los genotipos 4 y 5 están restringidos a África (168) ,y el genotipo 6 es endémico en el sudeste de Asia (169). Durante 1992-2002, hubo una disminución significativa, en un 2,3% anualmente, en la frecuencia de las cepas 1b detectadas en Bélgica (170). Una disminución similar en el subtipo 1b se han descrito en los países asiáticos y en Australia (35). En Europa se ha visto que los casos con 1b y 2a son más frecuentemente detectados en pacientes con antecedentes de transfusión de sangre (171) .

En un reciente estudio realizado en Andalucía se observó que el genotipo más prevalente en esta comunidad del VHC fue el genotipo 1 (58,1%), siendo predominante el subtipo 1a del VHC (38,3%). El porcentaje de pacientes con fibrosis F4 se encontró entre pacientes con el genotipo 3 (24,4%). El mayor porcentaje de pacientes F2 fue en el genoma 4 (31,3%), pero no es estadísticamente significativo. El porcentaje de hígado en los que no se conoce el estadio de fibrosis fue superior al 10% en los pacientes de VHC con genotipos 2, 3 y 4 (172).

En Europa, el genotipo más común del VHC es el genotipo 1 (Específicamente, el genotipo 1b), seguido por el genotipo 3; hay una frecuencia relativamente baja de los genotipos 2 y 4 (173).

En la presente tesis se ha observado que los genotipos más prevalentes en orden descendente en la población tratada en nuestro hospital fueron: genotipo 1b (61,2%), genotipo 1a (17,5%), genotipo 3 (7,5%), genotipo 4 (5,9%), subtipo desconocido de genotipo 1 (4,7%), Subtipo de genotipo mixto (1,3%), genotipo 2 (1%) y genotipo 5 (0,8%).

De los pacientes estudiados por nosotros estos, el 38% presentó insuficiencia renal crónica (32% en estadio II, 3,5% en estadio IIIa y IIIb, 1% en estadio IV y 1% en estadio V). Entre los pacientes con insuficiencia renal crónica, el 93% tenía genotipo 1 virus de la hepatitis C (79% Genotipo 1b) y 21% tenían fibrosis grado F4 en FibroScan.

La prevalencia de insuficiencia renal crónica en pacientes con tratamiento antiviral para el virus de la hepatitis C es mayor que en la población general (38% vs 9,1%), la mayoría con insuficiencia renal leve (tasa de filtración glomerular estimada superior a 60 mL/min/1.73m² o etapa de insuficiencia renal II).

La asociación entre la carga viral de VHC y la lesión hepática ha sido ampliamente estudiada, así como la inflamación y la fibrosis (174). La carga sérica de HVC antes de la terapia antiviral es un parámetro importante para evaluar los resultados clínicos de la terapia antiviral (175). Las células del parénquima hepático, son el sitio en el que se produce la replicación viral. A medida que avanza la fibrosis hepática, el volumen de células del parénquima hepático disminuye y puede causar cambios en la carga viral. Estudios previos han informado de que la gravedad de la lesión hepática no se correlaciona con la carga viral en los pacientes infectados por el HVC, aunque este aspecto sigue en controversia (176). Parece que la carga viral en las células del parénquima es un índice más apropiado en comparación con la carga viral sérica para evaluar la replicación del HVC en los hepatocitos, y puede funcionar como un factor importante en la evaluación de la lesión hepática (177).

Cuando analizamos los datos bioquímicos recogidos en nuestro estudio observamos que la carga viral de los pacientes con FG inferior a 45 ml/min tiene un descenso significativo de la carga viral. Desconocemos las causas de tal descenso. Pero ese extremo puede explicar la mejor evolución de los pacientes VHC con ERC.

GOT es un buen marcador de la infección en los pacientes pre-diálisis, en contraste con los individuos en hemodiálisis (178) En un estudio, 39 pacientes pre-diálisis con VHC

crónico comparados con pacientes en hemodiálisis (179) . Los pacientes antes de la diálisis eran mayores, con mayor proporción de niveles elevados de transaminasas, mayor actividad inflamatoria y fibrosis más avanzada En la histología del hígado. Encontraron que la hepatitis C crónica es más agresiva en sujetos con ERC en tratamiento conservador, que en diálisis.

Los sujetos de hemodiálisis, suelen presentar niveles bajos de ARN del VHC en suero, un hallazgo que puede deberse a la eliminación de las partículas de VHC durante la diálisis(180). Sin embargo, en nuestro estudio encontramos que esta reducción ocurre ya con filtrados inferiores a 45 ml/min, descartando la idea de que sea la hemodiálisis la causa.

Los pacientes con estadio G4 de ERC tienen menor fibrosis hepática. Por ese motivo debe de ser considerada a la hora del tratamiento la baja tasa de progresión de la fibrosis así como el alto riesgo de un mayor deterioro de la función renal a la hora de comenzar un tratamiento (181). En nuestro estudio la edad va aumentando a medida que desciende el filtrado glomerular. Parece que los pacientes con peor función renal son aquellos pacientes con HVC de mayor edad. Esa tendencia desaparece cuando el paciente está en diálisis, donde la edad baja de forma significativa.

Con la albúmina ocurre algo similar a lo encontrado con la edad. Los pacientes con peor filtrado tienen valores significativamente más bajos de albúmina, que corresponde también con mayor edad. Se va incrementando la desnutrición al deteriorarse la función renal. Sin embargo, el colesterol, que es otro parámetro de desnutrición permanece estable con el deterioro del FGe. Otros grupos han encontrado datos similares, con una reducción de la albúminas sérica (109).

En la presente tesis hemos encontrado que la GPT va descendiendo a medida que desciende el filtrado glomerular. Es bien conocido que los pacientes con ERC tienen valores más bajos de transaminasas, pero este dato también se cumple cuando tienen VHC positivo.

Actualmente no hay evidencias de si el tratamiento del VHC mejora la función renal en pacientes con insuficiencia renal. Sin embargo, es esperable que cuando la fibrosis renal está establecida no mejore esta. Si se ha visto en trasplantes renales que en los pacientes con ERC leve puede mejorar la función renal después del tratamiento, pero en los estadios G3-5 esto no ocurre. Se explica por una mejoría en el estado inflamatorio (182)

Igualmente hemos analizado la evolución de la función renal después del tratamiento antiviral, para ver las modificaciones con el mismo. Después del tratamiento antiviral se observa un leve deterioro de la función renal con aumento de la creatinina sérica, y descenso del filtrado glomerular. Si bien este descenso es estadísticamente significativo, parece carecer de significado clínico. Este descenso se objetiva tanto en FG entre 90-45 ml/min y por debajo de 45 ml/min. Pero es más acusado en aquellos pacientes con FG inferior a 45 ml/min.

➤ *TRATAMIENTO DE LA INFECCIÓN POR EL VIRUS DE LA HEPATITIS C CON TERAPIAS LIBRE DE INTERFERÓN EN PACIENTES CON INSUFICIENCIA RENAL CRÓNICA.*

Los riñones son responsables de la eliminación de sólo 1-13% de la dosis administrada de diferentes DAAs, lo que puede ocasionar un acúmulo en los pacientes con insuficiencia renal leve o moderada. En la actualidad se piensa que no es necesario ajustar la dosis con $eGFR > 30 \text{ ml / min / } 1,73 \text{ m}^2$, pero hay evidencias suficientes tampoco con eFG entre 30-60 ml/min.

Hay escasez de ensayos clínicos en pacientes con $eGFR < 30 \text{ mL / min / } 1,73 \text{ m}^2$ (Estadios G4-5). Dado el riesgo conocido de hemólisis con ribavirina y el de deterioro de la función renal con dosis completas de sofosbuvir, estos dos agentes se deben evitar en sus dosis usuales. Los fabricantes del protocolo de combinación Ledisprevir/Sofosbuvir (Harvoni) no recomiendan su uso con insuficiencia renal debido a la falta de datos. Por otra parte, el ensayo RUBY-1, que fue realizado en pacientes con insuficiencia renal grave, ha demostrado un 100% de respuesta viral sostenida a las 12 semanas (SVR-12) con el paquete Viekirax/Exviera (paritaprevir/ritonavir/Ombitasvir + dasabuvir), con o sin ribavirina (112). Aunque el estudio se realizó en pacientes infectados con genotipo 1 (GT-1), demuestra la seguridad y eficacia con $eGFR < 30 \text{ ml / min / } 1,73 \text{ m}^2$, que extrapola a otros genotipos (183).

Otro estudio ha mostrado una SVR-12 aceptable en 13/15 pacientes con insuficiencia renal grave con el uso de simeprevir junto con una dosis mitad de lo normal (200 mg) de sofosbuvir durante 12 semanas pero con resultados peores de respuesta viral (113). Este interesante enfoque aún no se ha verificado en una muestra más grande.

Daclatasvir es un fármaco prometedor para su uso en pacientes con insuficiencia renal. Si bien fue aprobado por la FDA sólo para genotipos 3 y 1, ha demostrado ser eficaz en otros genotipos incluyendo GT-4, cuando se combina con Sofosbuvir y Ribavirina (por ejemplo, Programa de uso compasivo multicéntrico (184) o peg-interferón (Estudio COMMAND-4) (185).

No existen datos clínicos sobre el uso de Daclatasvir en pacientes con insuficiencia renal. Sin embargo, un estudio bien controlado (AI444-063) de la farmacocinética de Daclatasvir ha demostrado un perfil favorable, incluso en pacientes con insuficiencia renal grave. Los niveles sanguíneos estaban ligeramente aumentados, pero dentro de los deseables rango terapéutico (186).

La combinación recientemente aprobada por la FDA Grazoprevir + Elbasvir (Zepatier®) ha demostrado una notable eficacia, así como seguridad en los estadios G4-5 de la ERC, en los pacientes con GT-1. En el estudio C-SURFER realizado en pacientes en diálisis, la tasa general de SVR12 en este tipo de pacientes fue del 99% (111).

La dializabilidad depende del tamaño molecular del fármaco y configuración, su unión a proteínas, carga electrostática y otros factores menos significativos. Es posible predecir la capacidad de dializabilidad del fármaco por estudios físicos y farmacocinéticos, pero los resultados clínicos siguen siendo cruciales para una conclusión final sobre este tipo de tratamientos.

Un ejemplo de la complejidad de esta cuestión es el sofosbuvir (187) Tiene un tamaño molecular relativamente pequeño que permite difusión a través de membranas de diálisis estándar. Sin embargo, se une un 61% a proteínas. Es una molécula neutra, que es activada por la fosforilación que la hace negativa, por lo que es repelida de la membrana de diálisis.

De acuerdo con estos factores hasta que no se disponga de otros datos, las únicas recomendaciones basadas en pruebas sería la familia Viekerax (112) sin Dasabuvir en GT-4 según el estudio PEARL-1 (184), el Grazoprevir más Elbasvir combinación en GT-1 (111) y, con menos confianza, el Simeprevir + 1/2 dosis de Sofosbuvir (113) que han producido SVR-12 del 100%, 99% y 84,6% respectivamente, después de 12 semanas de tratamiento en pacientes con ERC.

En nuestro estudio hemos observado 157 pacientes tratados en nuestra Unidad con terapias libre de interferón para la infección crónica por el virus de la hepatitis C, con un

filtrado glomerular estimado antes del tratamiento entre 60 y 90 ml/min/1.73m², con el fin de ver la evolución de la función renal. En el 48% de los pacientes se utilizó la combinación de ombitasvir/paritaprevir/ritonavir con dasabuvir, mientras que en el 52% restante se utilizaron tratamientos que incluían sofosbuvir combinado con ledipasvir, daclatasvir o simeprevir, con o sin ribavirina en ambos grupos. Se consiguió SVR12 del 100% de los pacientes, ocurriendo 2 recaídas (1.3%) a las 12 semanas. Éstas fueron en un paciente con infección por genotipo 1b, con fibrosis F4 y tratado con ledipasvir/sofosbuvir durante 24 semanas y en otro con infección por genotipo 1a, con fibrosis F0-F1 y tratado con ombitasvir/paritaprevir/ritonavir con dasabuvir y ribavirina durante 12 semanas; ambos con enfermedad hepática compensada.

Nosotros encontramos un leve deterioro de la función renal a las 12 semanas tras el tratamiento. Observamos que en torno a un 50% de los pacientes presenta un deterioro en la función renal tras el tratamiento. En promedio, estos pacientes tienen una mayor edad y carga viral al inicio del tratamiento en comparación con los pacientes que mejoran la función renal. Este descenso es más significativo en los pacientes que fueron tratados con sofosbuvir (53%) vs con los que no (47%). Sin embargo, sólo en el 12% de los pacientes se observó un empeoramiento clínicamente significativo en cuanto a progresión de la insuficiencia renal según estadio de enfermedad (FGe < 60 ml/min/1.73m²). Estos pacientes tenían una edad mayor y un FGe basal menor que la media del total de los pacientes. El 14% de los pacientes tratados con sofosbuvir, sufre un empeoramiento en su insuficiencia renal de base tras el tratamiento vs el 10% de los que no son tratados con sofosbuvir.

En el inicio del tratamiento con regímenes de DAA en pacientes con insuficiencia renal grave deben controlarse estrechamente a los pacientes para detectar deterioro de la función renal. El perfil completo no está claro en este momento. En pacientes con VHC GT1a, 1b o 4 con ERC G4 o 5, la mejor evidencia disponible es con el uso de Elbasvir y Grazoprevir, así como se recomienda por la AASLD / IDSA para el tratamiento del VHC la combinación de paritaprevir / ritonavir / ombitasvir /Dasabuvir para HCV GT1b ([http:// hcvguidelines.org](http://hcvguidelines.org)). Los estudios que se planteen en un futuro en pacientes con ERC, con y sin cirrosis, están obligados a entender los perfiles completos de seguridad y eficacia de estos regímenes, para aclarar completamente la importancia del

tratamiento y curación de VHC para detener la progresión de la enfermedad renal en estos pacientes (188).

CONCLUSIONES

CONCLUSIONES

1.- Las diferencias entre pacientes con VHC positivo y negativo encontrados han sido:

a.- Los pacientes VHC positivo tienen valores de cinética del hierro (hierro, ferritina e Índice de saturación de transferrina) superiores a los negativos.

b.- No se observan diferencias en los marcadores del metabolismo mineral (Calcio, fósforo, vitamina D y Parathormona) entre pacientes VHC positivos y negativos.

c.- Los valores de transaminasas han sido superiores en los pacientes VHC positivos, con valores de plaquetas más bajos.

2.- En la población estudiada:

a.- La prevalencia de enfermedad renal crónica en los pacientes HVC positivo es superior a los pacientes con VHC negativo.

b.- los genotipos más prevalentes en la población estudiada fueron el 1b, 1a y 3.

3.- La función renal de los pacientes con VHC positivo:

a.- La prevalencia de ERC en pacientes con tratamiento antiviral es mayor que la población general (38%), si bien la mayoría son insuficiencia renal leve estadio G2.

b.- La carga viral en los pacientes con filtrados inferiores a 45 ml/min tienen una menor carga viral.

c.- La edad aumenta a medida que desciende el filtrado glomerular en pacientes VHC positivo.

d.- Los pacientes VHC con peor filtrado tienen niveles más bajo de albúmina.

e.- La ALT desciende a medida que desciende el filtrado glomerular.

4.- La evolución de la función renal después del tratamiento del VHC con terapia libre de interferón fue:

a.- Se observa un leve deterioro de la función renal con un aumento de la creatinina sérica y descenso del filtrado glomerular.

b.- El 50% de los pacientes presenta un deterioro de la función renal tras el tratamiento.

c.- Los pacientes con mayor edad tienen peor función renal y más carga viral, Este descenso es mayor en los tratados con sofosbuvir.

BIBLIOGRAFIA

BIBLIOGRAFIA

1. Lozano R, Naghavi M, Foreman K, Lim S, Shibuya K, Aboyans V, et al. Global and regional mortality from 235 causes of death for 20 age groups in 1990 and 2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. *Lancet*. 2012 Dec;380(9859):2095–128.
2. Hézode C, Alric L, Brown A, Hassanein T, Rizzetto M, Buti M, et al. Randomized controlled trial of the NS5A inhibitor daclatasvir plus peginterferon and ribavirin for HCV genotype-4 (COMMAND-4). *Antivir Ther*. 2015;20(3):195–205.
3. Mallat A, Hezode C, Lotersztajn S. Environmental factors as disease accelerators during chronic hepatitis C. *J Hepatol*. 2008 Apr;48(4):657–65.
4. van de Laar TJW, Matthews G V, Prins M, Danta M. Acute hepatitis C in HIV-infected men who have sex with men: an emerging sexually transmitted infection. *AIDS*. 2010 Jul 31;24(12):1799–812.
5. Bruguera M, Forns X. [Hepatitis C in Spain]. *Med Clin (Barc)*. 2006 Jun 17;127(3):113–7.
6. Seeff LB. Natural history of hepatitis C. *Hepatology*. 1997 Dec;26(S3):21S–28S.
7. Wiese M, Grüngreiff K, Güthoff W, Lafrenz M, Oesen U, Porst H, et al. Outcome in a hepatitis C (genotype 1b) single source outbreak in Germany--a 25-year multicenter study. *J Hepatol*. 2005 Oct;43(4):590–8.
8. Choo QL, Kuo G, Weiner AJ, Overby LR, Bradley DW, Houghton M. Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne non-A, non-B viral hepatitis genome. *Science*. 1989 Apr 21;244(4902):359–62.
9. Shepherd RJ, Francki RI, Hirth L, Hollings M, Inouye T, MacLeod R, et al. New groups of plant viruses approved by the International Committee on Taxonomy of Viruses, September 1975. *Intervirology*. 6(3):181–4.
10. Wong DK, Dudley DD, Dohrenwend PB, Lauer GM, Chung RT, Thomas DL, et al. Detection of diverse hepatitis C virus (HCV)-specific cytotoxic T lymphocytes in peripheral blood of infected persons by screening for responses to

- all translated proteins of HCV. *J Virol.* 2001 Feb 1;75(3):1229–35.
11. Shimizu YK, Feinstone SM, Kohara M, Purcell RH, Yoshikura H. Hepatitis C virus: detection of intracellular virus particles by electron microscopy. *Hepatology.* 1996 Feb;23(2):205–9.
 12. Bartenschlager R, Lohmann V. Replication of hepatitis C virus. *J Gen Virol.* 2000 Jul 1;81(Pt 7):1631–48.
 13. Li X, Jeffers LJ, Shao L, Reddy KR, de Medina M, Scheffel J, et al. Identification of hepatitis C virus by immunoelectron microscopy. *J Viral Hepat.* 1995;2(5):227–34.
 14. Major ME, Feinstone SM. The molecular virology of hepatitis C. *Hepatology.* 1997 Jun;25(6):1527–38.
 15. Kato N. Molecular virology of hepatitis C virus. *Acta Med Okayama.* 2001 Jun;55(3):133–59.
 16. Carrick RJ, Schlauder GG, Peterson DA, Mushahwar IK. Examination of the buoyant density of hepatitis C virus by the polymerase chain reaction. *J Virol Methods.* 1992 Sep;39(3):279–89.
 17. Kolykhalov AA, Mihalik K, Feinstone SM, Rice CM. Hepatitis C virus-encoded enzymatic activities and conserved RNA elements in the 3' nontranslated region are essential for virus replication in vivo. *J Virol.* 2000 Feb;74(4):2046–51.
 18. Shimoike T, Mimori S, Tani H, Matsuura Y, Miyamura T. Interaction of hepatitis C virus core protein with viral sense RNA and suppression of its translation. *J Virol.* 1999 Dec;73(12):9718–25.
 19. McLauchlan J. Properties of the hepatitis C virus core protein: a structural protein that modulates cellular processes. *J Viral Hepat.* 2000 Jan;7(1):2–14.
 20. Pileri P, Uematsu Y, Campagnoli S, Galli G, Falugi F, Petracca R, et al. Binding of hepatitis C virus to CD81. *Science.* 1998 Oct 30;282(5390):938–41.
 21. Kmiecik D, Biernacka-Lukanty J, Migdalski P, Turek-Plewa J, Wierzbicki A, Juszczak J, et al. A correlation between the heterogeneity of hypervariable region 1 of E2 glycoprotein of Hepatitis C virus (HCV) and HCV antibody profile: a case study. *Acta Virol.* 2005;49(2):97–103.

22. Kim JL, Morgenstern KA, Griffith JP, Dwyer MD, Thomson JA, Murcko MA, et al. Hepatitis C virus NS3 RNA helicase domain with a bound oligonucleotide: the crystal structure provides insights into the mode of unwinding. *Structure*. 1998 Jan 15;6(1):89–100.
23. Grakoui A, McCourt DW, Wychowski C, Feinstone SM, Rice CM. Characterization of the hepatitis C virus-encoded serine proteinase: determination of proteinase-dependent polyprotein cleavage sites. *J Virol*. 1993 May;67(5):2832–43.
24. Gale M, Blakely CM, Kwieciszewski B, Tan SL, Dossett M, Tang NM, et al. Control of PKR protein kinase by hepatitis C virus nonstructural 5A protein: molecular mechanisms of kinase regulation. *Mol Cell Biol*. 1998 Sep;18(9):5208–18.
25. Perlemuter G, Sabile A, Letteron P, Vona G, Topilco A, Chrétien Y, et al. Hepatitis C virus core protein inhibits microsomal triglyceride transfer protein activity and very low density lipoprotein secretion: a model of viral-related steatosis. *FASEB J*. 2002 Feb 1;16(2):185–94.
26. Bukh J, Miller RH, Purcell RH. Genetic heterogeneity of hepatitis C virus: quasispecies and genotypes. *Semin Liver Dis*. 1995 Feb 16;15(1):41–63.
27. Moradpour D, Penin F, Rice CM. Replication of hepatitis C virus. *Nat Rev Microbiol*. 2007 Jun 8;5(6):453–63.
28. Weiner AJ, Geysen HM, Christopherson C, Hall JE, Mason TJ, Saracco G, et al. Evidence for immune selection of hepatitis C virus (HCV) putative envelope glycoprotein variants: potential role in chronic HCV infections. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1992 Apr 15;89(8):3468–72.
29. Farci P, Shimoda A, Coiana A, Diaz G, Peddis G, Melpolder JC, et al. The outcome of acute hepatitis C predicted by the evolution of the viral quasispecies. *Science*. 2000 Apr 14;288(5464):339–44.
30. National Institutes of Health LB, Hoofnagle JH. National Institutes of Health Consensus Development Conference Statement: Management of hepatitis C: 2002--June 10-12, 2002. *Hepatology*. 2002 Nov;36(5 Suppl 1):S3-20.

31. Alberti A. Towards more individualised management of hepatitis C virus patients with initially or persistently normal alanineaminotransferase levels. *J Hepatol.* 2005 Feb;42(2):266–74.
32. Alter MJ, Kruszon-Moran D, Nainan O V, McQuillan GM, Gao F, Moyer LA, et al. The prevalence of hepatitis C virus infection in the United States, 1988 through 1994. *N Engl J Med.* 1999 Aug 19;341(8):556–62.
33. Solà R, Cruz De Castro E, Hombrados M, Planas R, Coll S, Jardí R, et al. [Prevalence of hepatitis B and hepatitis C viruses in different counties of Catalonia, Spain: cross-sectional study]. *Med Clin (Barc).* 2002 Jun 22;119(3):90–5.
34. Cheung RC, Hanson AK, Maganti K, Keefe EB, Matsui SM. Viral hepatitis and other infectious diseases in a homeless population. *J Clin Gastroenterol.* 2002 Apr;34(4):476–80.
35. Briggs ME, Baker C, Hall R, Gaziano JM, Gagnon D, Bzowej N, et al. Prevalence and risk factors for hepatitis C virus infection at an urban Veterans Administration medical center. *Hepatology.* 2001 Dec;34(6):1200–5.
36. Alter MJ. Prevention of spread of hepatitis C. *Hepatology.* 2002 Nov;36(5 Suppl 1):S93-8.
37. van der Poel CL. Hepatitis C virus and blood transfusion: past and present risks. *J Hepatol.* 1999;31 Suppl 1:101–6.
38. Esteban JI, González A, Hernández JM, Viladomiu L, Sánchez C, López-Talavera JC, et al. Evaluation of antibodies to hepatitis C virus in a study of transfusion-associated hepatitis. *N Engl J Med.* 1990 Oct 18;323(16):1107–12.
39. Sánchez-Tapias JM. Nosocomial transmission of hepatitis C virus. *J Hepatol.* 1999;31 Suppl 1:107–12.
40. Ishimaru T, Wada K, R. Smith D. A consensus for occupational health management of healthcare workers infected with human immunodeficiency virus, hepatitis B virus, and/or hepatitis C virus. *J Occup Health.* 2017 Apr 5;
41. Pereira BJ, Milford EL, Kirkman RL, Levey AS. Transmission of hepatitis C virus by organ transplantation. *N Engl J Med.* 1991 Aug 15;325(7):454–60.

42. Esteban JI, Gómez J, Martell M, Cabot B, Quer J, Camps J, et al. Transmission of hepatitis C virus by a cardiac surgeon. *N Engl J Med*. 1996 Feb 29;334(9):555–60.
43. Suzuki K, Mizokami M, Lau JY, Mizoguchi N, Kato K, Mizuno Y, et al. Confirmation of hepatitis C virus transmission through needlestick accidents by molecular evolutionary analysis. *J Infect Dis*. 1994 Dec;170(6):1575–8.
44. Allander T, Gruber A, Naghavi M, Beyene A, Söderström T, Björkholm M, et al. Frequent patient-to-patient transmission of hepatitis C virus in a haematology ward. *Lancet (London, England)*. 1995 Mar 11;345(8950):603–7.
45. Martínez-Bauer E, Forns X. [Antiviral treatment in liver cirrhosis due to hepatitis C virus]. *Gastroenterol Hepatol*. 2003 May;26(5):303–6.
46. Conry-Cantilena C, VanRaden M, Gible J, Melpolder J, Shakil AO, Viladomiu L, et al. Routes of infection, viremia, and liver disease in blood donors found to have hepatitis C virus infection. *N Engl J Med*. 1996 Jun 27;334(26):1691–6.
47. Terrault NA. Sexual activity as a risk factor for hepatitis C. *Hepatology*. 2002 Nov;36(5):ajhep0360s99.
48. Zarski JP, Leroy V. Counselling patients with hepatitis C. *J Hepatol*. 1999;31 Suppl 1:136–40.
49. Okamoto M, Nagata I, Murakami J, Kaji S, Iitsuka T, Hoshika T, et al. Prospective reevaluation of risk factors in mother-to-child transmission of hepatitis C virus: high virus load, vaginal delivery, and negative anti-NS4 antibody. *J Infect Dis*. 2000 Nov;182(5):1511–4.
50. Roberts EA, Yeung L. Maternal-infant transmission of hepatitis C virus infection. *Hepatology*. 2002 Nov;36(5 Suppl 1):S106-13.
51. Zanetti AR, Tanzi E, Newell ML. Mother-to-infant transmission of hepatitis C virus. *J Hepatol*. 1999;31 Suppl 1:96–100.
52. Ohto H, Terazawa S, Sasaki N, Sasaki N, Hino K, Ishiwata C, et al. Transmission of Hepatitis C Virus from Mothers to Infants. *N Engl J Med*. 1994 Mar 17;330(11):744–50.
53. Rodriguez-Luna H, Vargas HE, Sharma P, Ortiz J, De Petris G, Balan V, et al.

- Hepatitis C virus recurrence in living donor liver transplant recipients. *Dig Dis Sci*. 2004 Jan;49(1):38–41.
54. Levy R, Tardy JC, Bourlet T, Cordonier H, Mion F, Lornage J, et al. Transmission risk of hepatitis C virus in assisted reproductive techniques. *Hum Reprod*. 2000 Apr;15(4):810–6.
 55. Farci P, Purcell RH. Clinical significance of hepatitis C virus genotypes and quasispecies. *Semin Liver Dis*. 2000;20(1):103–26.
 56. Cerny A, Chisari F V. Pathogenesis of chronic hepatitis C: immunological features of hepatic injury and viral persistence. *Hepatology*. 1999 Sep;30(3):595–601.
 57. McCaughan GW, Zekry A. Mechanisms of HCV reinfection and allograft damage after liver transplantation. *J Hepatol*. 2004 Mar;40(3):368–74.
 58. Desmet VJ. Immunopathology of chronic viral hepatitis. *Hepatogastroenterology*. 1991 Feb;38(1):14–21.
 59. Mahoney FJ. Update on diagnosis, management, and prevention of hepatitis B virus infection. *Clin Microbiol Rev*. 1999 Apr;12(2):351–66.
 60. Nelson DR, Marousis CG, Davis GL, Rice CM, Wong J, Houghton M, et al. The role of hepatitis C virus-specific cytotoxic T lymphocytes in chronic hepatitis C. *J Immunol*. 1997 Feb 1;158(3):1473–81.
 61. Gerlach JT, Diepolder HM, Jung MC, Gruener NH, Schraut WW, Zachoval R, et al. Recurrence of hepatitis C virus after loss of virus-specific CD4(+) T-cell response in acute hepatitis C. *Gastroenterology*. 1999 Oct;117(4):933–41.
 62. Heydtmann M, Shields P, McCaughan G, Adams D. Cytokines and chemokines in the immune response to hepatitis C infection. *Curr Opin Infect Dis*. 2001 Jun;14(3):279–87.
 63. Tsai SL, Liaw YF, Chen MH, Huang CY, Kuo GC. Detection of type 2-like T-helper cells in hepatitis C virus infection: implications for hepatitis C virus chronicity. *Hepatology*. 1997 Feb;25(2):449–58.
 64. González-Amaro R, García-Monzón C, García-Buey L, Moreno-Otero R, Alonso JL, Yagüe E, et al. Induction of tumor necrosis factor alpha production by human

- hepatocytes in chronic viral hepatitis. *J Exp Med*. 1994 Mar 1;179(3):841–8.
65. Zhu N, Khoshnan A, Schneider R, Matsumoto M, Dennert G, Ware C, et al. Hepatitis C virus core protein binds to the cytoplasmic domain of tumor necrosis factor (TNF) receptor 1 and enhances TNF-induced apoptosis. *J Virol*. 1998 May;72(5):3691–7.
 66. Lee JH, Teuber G, von Wagner M, Roth WK, Zeuzem S. Antiviral effect of human recombinant interleukin-12 in patients infected with hepatitis C virus. *J Med Virol*. 2000 Mar;60(3):264–8.
 67. Blobel GC, Schiemann WP, Lodish HF, Lodish HF. Role of transforming growth factor beta in human disease. *N Engl J Med*. 2000 May 4;342(18):1350–8.
 68. Verma V, Chakravarti A, Kar P. Cytokine levels of TGF-beta, IL-10, and sTNFalphaRII in type C chronic liver disease. *Dig Dis Sci*. 2008 Aug 14;53(8):2233–7.
 69. García-Monzón C, Sánchez-Madrid F, García-Buey L, García-Arroyo A, García-Sánchez A, Moreno-Otero R. Vascular adhesion molecule expression in viral chronic hepatitis: evidence of neoangiogenesis in portal tracts. *Gastroenterology*. 1995 Jan;108(1):231–41.
 70. Neuman MG, Benhamou J-P, Bourliere M, Ibrahim A, Malkiewicz I, Asselah T, et al. Serum tumour necrosis factor-alpha and transforming growth factor-beta levels in chronic hepatitis C patients are immunomodulated by therapy. *Cytokine*. 2002 Jan 21;17(2):108–17.
 71. Majano PL, García-Monzón C, López-Cabrera M, Lara-Pezzi E, Fernández-Ruiz E, García-Iglesias C, et al. Inducible nitric oxide synthase expression in chronic viral hepatitis. Evidence for a virus-induced gene upregulation. *J Clin Invest*. 1998 Apr 1;101(7):1343–52.
 72. Farci P, Alter HJ, Shimoda A, Govindarajan S, Cheung LC, Melpolder JC, et al. Hepatitis C virus-associated fulminant hepatic failure. *N Engl J Med*. 1996 Aug 29;335(9):631–4.
 73. Large MK, Kittlesen DJ, Hahn YS. Suppression of host immune response by the core protein of hepatitis C virus: possible implications for hepatitis C virus

- persistence. *J Immunol*. 1999 Jan 15;162(2):931–8.
74. Villano SA, Vlahov D, Nelson KE, Cohn S, Thomas DL. Persistence of viremia and the importance of long-term follow-up after acute hepatitis C infection. *Hepatology*. 1999 Mar;29(3):908–14.
 75. Ishii K, Rosa D, Watanabe Y, Katayama T, Harada H, Wyatt C, et al. High titers of antibodies inhibiting the binding of envelope to human cells correlate with natural resolution of chronic hepatitis C. *Hepatology*. 1998 Oct;28(4):1117–20.
 76. Grakoui A, Shoukry NH, Woollard DJ, Han J-H, Hanson HL, Ghrayeb J, et al. HCV persistence and immune evasion in the absence of memory T cell help. *Science*. 2003 Oct 24;302(5645):659–62.
 77. Persico M, Persico E, Suozzo R, Conte S, De Seta M, Coppola L, et al. Natural history of hepatitis C virus carriers with persistently normal aminotransferase levels. *Gastroenterology*. 2000 Apr;118(4):760–4.
 78. Hoofnagle JH. Hepatitis C: The clinical spectrum of disease. *Hepatology*. 1997 Dec;26(S3):15S–20S.
 79. Donato F, Tagger A, Chiesa R, Ribero ML, Tomasoni V, Fasola M, et al. Hepatitis B and C virus infection, alcohol drinking, and hepatocellular carcinoma: A case-control study in Italy. *Hepatology*. 1997 Sep;26(3):579–84.
 80. Nojiri S, Fujiwara K, Shinkai N, Endo M, Joh T. Evaluation of hepatocellular carcinoma development in patients with chronic hepatitis C by EOB-MRI. *World J Hepatol*. Baishideng Publishing Group Inc; 2014 Dec 27;6(12):930–8.
 81. Singal AG, Volk ML, Jensen D, Di Bisceglie AM, Schoenfeld PS. A Sustained Viral Response Is Associated With Reduced Liver-Related Morbidity and Mortality in Patients With Hepatitis C Virus. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2010 Mar;8(3):280–288.e1.
 82. Krajden M, Ziermann R, Khan A, Mak A, Leung K, Hendricks D, et al. Qualitative detection of hepatitis C virus RNA: comparison of analytical sensitivity, clinical performance, and workflow of the Cobas Amplicor HCV test version 2.0 and the HCV RNA transcription-mediated amplification qualitative assay. *J Clin Microbiol*. American Society for Microbiology (ASM); 2002

Aug;40(8):2903–7.

83. Morishima C, Gretch DR. Clinical use of hepatitis C virus tests for diagnosis and monitoring during therapy. *Clin Liver Dis.* 1999 Nov;3(4):717–40.
84. Caliendo AM, Valsamakis A, Zhou Y, Yen-Lieberman B, Andersen J, Young S, et al. Multilaboratory comparison of hepatitis C virus viral load assays. *J Clin Microbiol.* 2006 May 1;44(5):1726–32.
85. Lee JH, Roth WK, Zeuzem S. Evaluation and comparison of different hepatitis C virus genotyping and serotyping assays. *J Hepatol.* 1997 May;26(5):1001–9.
86. Scott JD, Gretch DR. Molecular Diagnostics of Hepatitis C Virus Infection. *JAMA.* 2007 Feb 21;297(7):724.
87. Puoti M, Zonaro A, Ravaggi A, Marin MG, Castelnovo F, Cariani E. Hepatitis C virus RNA and antibody response in the clinical course of acute hepatitis C virus infection. *Hepatology.* 1992 Oct;16(4):877–81.
88. Thio CL, Nolt KR, Astemborski J, Vlahov D, Nelson KE, Thomas DL. Screening for hepatitis C virus in human immunodeficiency virus-infected individuals. *J Clin Microbiol.* 2000 Feb;38(2):575–7.
89. Poynard T, Bedossa P, Opolon P. Natural history of liver fibrosis progression in patients with chronic hepatitis C. The OBSVIRC, METAVIR, CLINIVIR, and DOSVIRC groups. *Lancet (London, England).* 1997 Mar 22;349(9055):825–32.
90. Fattovich G, Giustina G, Degos F, Tremolada F, Diodati G, Almasio P, et al. Morbidity and mortality in compensated cirrhosis type C: a retrospective follow-up study of 384 patients. *Gastroenterology.* 1997 Feb;112(2):463–72.
91. Freeman AJ, Dore GJ, Law MG, Thorpe M, Von Overbeck J, Lloyd AR, et al. Estimating progression to cirrhosis in chronic hepatitis C virus infection. *Hepatology.* 2001 Oct;34(4 Pt 1):809–16.
92. Khan MH, Farrell GC, Byth K, Lin R, Weltman M, George J, et al. Which patients with hepatitis C develop liver complications? *Hepatology.* 2000 Feb;31(2):513–20.
93. Wiley TE, McCarthy M, Breidi L, McCarthy M, Layden TJ. Impact of alcohol on the histological and clinical progression of hepatitis C infection. *Hepatology.*

1998 Sep;28(3):805–9.

94. Pessione F, Ramond MJ, Njapoum C, Duchatelle V, Degott C, Erlinger S, et al. Cigarette smoking and hepatic lesions in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology*. 2001 Jul;34(1):121–5.
95. Adinolfi LE, Gambardella M, Andreana A, Tripodi MF, Utili R, Ruggiero G. Steatosis accelerates the progression of liver damage of chronic hepatitis C patients and correlates with specific HCV genotype and visceral obesity. *Hepatology*. 2001 Jun;33(6):1358–64.
96. Ong JP, Younossi ZM, Speer C, Olano A, Gramlich T, Boparai N. Chronic hepatitis C and superimposed nonalcoholic fatty liver disease. *Liver*. 2001 Aug;21(4):266–71.
97. Ghany MG, Kleiner DE, Alter H, Doo E, Khokar F, Promrat K, et al. Progression of fibrosis in chronic hepatitis C. *Gastroenterology*. 2003 Jan;124(1):97–104.
98. El-Serag HB, Mason AC. Rising incidence of hepatocellular carcinoma in the United States. *N Engl J Med*. 1999 Mar 11;340(10):745–50.
99. Go AS, Chertow GM, Fan D, McCulloch CE, Hsu C. Chronic kidney disease and the risks of death, cardiovascular events, and hospitalization. *N Engl J Med*. 2004 Sep 23;351(13):1296–305.
100. Barril G, Traver JA. Decrease in the hepatitis C virus (HCV) prevalence in hemodialysis patients in Spain: effect of time, initiating HCV prevalence studies and adoption of isolation measures. *Antiviral Res*. 2003 Oct;60(2):129–34.
101. Espinosa M, Martn-Malo A, Ojeda R, Santamara R, Soriano S, Aguera M, et al. Marked reduction in the prevalence of hepatitis C virus infection in hemodialysis patients: causes and consequences. *Am J Kidney Dis*. 2004 Apr;43(4):685–9.
102. Park H, Adeyemi A, Henry L, Stepanova M, Younossi Z. A meta-analytic assessment of the risk of chronic kidney disease in patients with chronic hepatitis C virus infection. *J Viral Hepat*. 2015 Nov;22(11):897–905.
103. Fabrizi F, Verdesca S, Messa P, Martin P. Hepatitis C Virus Infection Increases the Risk of Developing Chronic Kidney Disease: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Dig Dis Sci*. 2015 Dec 21;60(12):3801–13.

104. García-Agudo R, Aoufi-Rabih S, Barril-Cuadrado G, Grupo de Virus en Diálisis de la Sociedad Española de Nefrología. SHECTS multi-centre Spanish study: liver situation of patients with chronic hepatitis from HCV on renal replacement therapy with haemodialysis. *Nefrologia*. 2013;33(2):188–95.
105. Bandi L. Renal manifestations of hepatitis C virus infection. *Postgrad Med*. 2003 Feb;113(2):73–86.
106. Tsui JI, Vittinghoff E, Shlipak MG, O'Hare AM. Relationship between hepatitis C and chronic kidney disease: results from the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *J Am Soc Nephrol*. 2006 Apr 8;17(4):1168–74.
107. Petta S. Hepatitis C virus and cardiovascular: A review. *J Adv Res*. 2017 Mar;8(2):161–8.
108. Daniels D, Grytdal S, Wasley A, Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Surveillance for acute viral hepatitis - United States, 2007. *MMWR Surveill Summ*. 2009 May 22;58(3):1–27.
109. Lee CH, Shin HP, Lee J Il, Joo KR, Cha JM, Jeon JW, et al. Predicting factors of present hepatitis C virus infection among patients positive for the hepatitis C virus antibody. *Clin Mol Hepatol*. 2013;19(4):376.
110. Huang Y-W, Yang S-S, Fu S-C, Wang T-C, Hsu C-K, Chen D-S, et al. Increased risk of cirrhosis and its decompensation in chronic hepatitis C patients with new-onset diabetes: a nationwide cohort study. *Hepatology*. 2014 Sep;60(3):807–14.
111. Roth D, Nelson DR, Bruchfeld A, Liapakis A, Silva M, Monsour H, et al. Grazoprevir plus elbasvir in treatment-naïve and treatment-experienced patients with hepatitis C virus genotype 1 infection and stage 4–5 chronic kidney disease (the C-SURFER study): a combination phase 3 study. *Lancet*. 2015 Oct;386(10003):1537–45.
112. Pockros PJ, Reddy KR, Mantry PS, Cohen E, Bennett M, Sulkowski MS, et al. Efficacy of Direct-Acting Antiviral Combination for Patients With Hepatitis C Virus Genotype 1 Infection and Severe Renal Impairment or End-Stage Renal Disease. *Gastroenterology*. 2016 Jun;150(7):1590–8.
113. Bhamidimarri KR, Kalyan Ram B, Czul F, Frank C, Peyton A, Adam P, et al.

- Safety, efficacy and tolerability of half-dose sofosbuvir plus simeprevir in treatment of Hepatitis C in patients with end stage renal disease. *J Hepatol*. 2015 Sep;63(3):763–5.
114. Corouge M, Vallet-Pichard A, Pol S. HCV and the kidney. *Liver Int*. 2016 Jan;36:28–33.
 115. Levey AS, Stevens LA, Schmid CH, Zhang YL, Castro AF, Feldman HI, et al. A new equation to estimate glomerular filtration rate. *Ann Intern Med*. NIH Public Access; 2009 May 5;150(9):604–12.
 116. Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) CKD Work Group. KDIGO 2012 Clinical Practice Guideline for the Evaluation and Management of Chronic Kidney Disease KDIGO 2012 Clinical Practice Guideline for the Evaluation and Management of Chronic Kidney Disease KDIGO 2012 Clinical Practice Guideline for the Evaluation. *Kidney Int Suppl*. 2013;3(1).
 117. Corouge M, Vallet-Pichard A, Pol S. HCV and the kidney. *Liver Int*. 2016 Jan;36 Suppl 1:28–33.
 118. Mathurin P, Mouquet C, Poynard T, Sylla C, Benalia H, Fretz C, et al. Impact of hepatitis B and C virus on kidney transplantation outcome. *Hepatology*. 1999 Jan;29(1):257–63.
 119. Isnard Bagnis C, Cacoub P. Hepatitis C Therapy in Renal Patients: Who, How, When? *Infect Dis Ther*. 2016 Sep 7;5(3):313–27.
 120. Cacoub P, Gragnani L, Comarmond C, Zignego AL. Extrahepatic manifestations of chronic hepatitis C virus infection. *Dig Liver Dis*. 2014 Dec;46:S165–73.
 121. Barsoum RS, William EA, Khalil SS. Hepatitis C and kidney disease: A narrative review. *J Adv Res*. 2017 Mar;8(2):113–30.
 122. Fissell RB, Bragg-Gresham JL, Woods JD, Jadoul M, Gillespie B, Hedderwick SA, et al. Patterns of hepatitis C prevalence and seroconversion in hemodialysis units from three continents: The DOPPS. *Kidney Int*. 2004 Jun;65(6):2335–42.
 123. Sivapalasingam S, Malak SF, Sullivan JF, Lorch J, Sepkowitz KA. High prevalence of hepatitis C infection among patients receiving hemodialysis at an urban dialysis center. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2002 Jun;23(6):319–24.

124. Pereira BJB, Natov SN, Bouthot BA, Murthy BVR, Ruthazer R, Schmid CH, et al. Effect of hepatitis C infection and renal transplantation on survival in end-stage renal disease¹¹See Editorial by Goral and Helderman, p. 1420. *Kidney Int.* 1998 May;53(5):1374–81.
125. Hanafusa T, Ichikawa Y, Kishikawa H, Kyo M, Fukunishi T, Kokado Y, et al. Retrospective study on the impact of hepatitis C virus infection on kidney transplant patients over 20 years. *Transplantation.* 1998 Aug 27;66(4):471–6.
126. Negro F, Forton D, Craxì A, Sulkowski MS, Feld JJ, Manns MP. Extrahepatic Morbidity and Mortality of Chronic Hepatitis C. *Gastroenterology.* 2015 Nov;149(6):1345–60.
127. Ishizaka Y, Ishizaka N, Takahashi E, Unuma T, Tooda E, Hashimoto H, et al. Association between hepatitis C virus core protein and carotid atherosclerosis. *Circ J.* 2003 Jan;67(1):26–30.
128. Butt AA, Xiaoqiang W, Budoff M, Leaf D, Kuller LH, Justice AC. Hepatitis C virus infection and the risk of coronary disease. *Clin Infect Dis.* 2009 Jul 15;49(2):225–32.
129. Branche E, Conzelmann S, Parisot C, Bedert L, Lévy PL, Bartosch B, et al. Hepatitis C Virus Increases Occludin Expression via the Upregulation of Adipose Differentiation-Related Protein. Ray RB, editor. *PLoS One.* 2016 Jan 5;11(1):e0146000.
130. Loizides-Mangold U, Clément S, Alfonso-Garcia A, Branche E, Conzelmann S, Parisot C, et al. HCV 3a Core Protein Increases Lipid Droplet Cholesteryl Ester Content via a Mechanism Dependent on Sphingolipid Biosynthesis. Jhaveri R, editor. *PLoS One.* 2014 Dec 18;9(12):e115309.
131. Adinolfi LE, Restivo L, Zampino R, Guerrera B, Lonardo A, Ruggiero L, et al. Chronic HCV infection is a risk of atherosclerosis. Role of HCV and HCV-related steatosis. *Atherosclerosis.* 2012 Apr;221(2):496–502.
132. Jacobson Brown PM, Neuman MG. Immunopathogenesis of hepatitis C viral infection: Th1/Th2 responses and the role of cytokines. *Clin Biochem.* 2001 May;34(3):167–71.

133. Abbas Z, Moatter T. Interleukin (IL) 1beta and IL-10 gene polymorphism in chronic hepatitis C patients with normal or elevated alanine aminotransferase levels. *J Pak Med Assoc.* 2003 Feb;53(2):59–62.
134. Adinolfi LE. Chronic hepatitis C virus infection and atherosclerosis: Clinical impact and mechanisms. *World J Gastroenterol.* 2014;20(13):3410.
135. Petta S, Torres D, Fazio G, Cammà C, Cabibi D, Di Marco V, et al. Carotid atherosclerosis and chronic hepatitis C: a prospective study of risk associations. *Hepatology.* 2012 May;55(5):1317–23.
136. Boddi M, Abbate R, Chellini B, Giusti B, Giannini C, Pratesi G, et al. Hepatitis C virus RNA localization in human carotid plaques. *J Clin Virol.* 2010 Jan;47(1):72–5.
137. Fargion S, Porzio M, Fracanzani AL. Nonalcoholic fatty liver disease and vascular disease: state-of-the-art. *World J Gastroenterol.* 2014 Oct 7;20(37):13306–24.
138. Lonardo A, Adinolfi LE, Loria P, Carulli N, Ruggiero G, Day CP. Steatosis and hepatitis C virus: mechanisms and significance for hepatic and extrahepatic disease. *Gastroenterology.* 2004 Feb;126(2):586–97.
139. Fontana RJ, Israel J, LeClair P, Banner BF, Tortorelli K, Grace N, et al. Iron reduction before and during interferon therapy of chronic hepatitis C: results of a multicenter, randomized, controlled trial. *Hepatology.* 2000 Mar;31(3):730–6.
140. Foka P, Dimitriadis A, Karamichali E, Kyrtzopoulou E, Giannimaras D, Koskinas J, et al. Alterations in the iron homeostasis network: A driving force for macrophage-mediated hepatitis C virus persistency. *Virulence.* 2016 Aug 17;7(6):679–90.
141. Meynard D, Babitt JL, Lin HY. The liver: conductor of systemic iron balance. *Blood.* 2014 Jan 9;123(2):168–76.
142. Hézode C, Cazeneuve C, Coué O, Roudot-Thoraval F, Lonjon I, Bastie A, et al. Liver iron accumulation in patients with chronic active hepatitis C: prevalence and role of hemochromatosis gene mutations and relationship with hepatic histological lesions. *J Hepatol.* 1999 Dec;31(6):979–84.

143. Lok AS, Everhart JE, Chung RT, Kim H-Y, Everson GT, Hoefs JC, et al. Evolution of hepatic steatosis in patients with advanced hepatitis C: Results from the hepatitis C antiviral long-term treatment against cirrhosis (HALT-C) trial. *Hepatology*. 2009 Jun;49(6):1828–37.
144. Mueller S, Afdhal NH, Schuppan D. Iron, HCV, and liver cancer: hard metal setting the pace? *Gastroenterology*. 2006 Jun;130(7):2229–34.
145. Fontana RJ, Israel J, LeClair P, Banner BF, Tortorelli K, Grace N, et al. Iron reduction before and during interferon therapy of chronic hepatitis C: Results of a multicenter, randomized, controlled trial. *Hepatology*. 2000 Mar;31(3):730–6.
146. Rostoker G, Vaziri ND. Impact of iatrogenic iron overload on the course of hepatitis C in dialysis population: A plea for caution. *Hemodial Int*. 2017 Mar 23;
147. Corazza GR, Trevisani F, Di Stefano M, De Notariis S, Veneto G, Cecchetti L, et al. Early increase of bone resorption in patients with liver cirrhosis secondary to viral hepatitis. *Dig Dis Sci*. 2000 Jul;45(7):1392–9.
148. Leslie WD, Bernstein CN, Leboff MS, American Gastroenterological Association Clinical Practice Committee. AGA technical review on osteoporosis in hepatic disorders. *Gastroenterology*. 2003 Sep;125(3):941–66.
149. Gonzalez-Calvin JL, Gallego-Rojó F, Fernandez-Perez R, Casado-Caballero F, Ruiz-Escolano E, Olivares EG. Osteoporosis, mineral metabolism, and serum soluble tumor necrosis factor receptor p55 in viral cirrhosis. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004 Sep;89(9):4325–30.
150. Solís-Herruzo JA, Castellano G, Fernández I, Muñoz R, Hawkins F. Decreased bone mineral density after therapy with alpha interferon in combination with ribavirin for chronic hepatitis C. *J Hepatol*. 2000 Nov;33(5):812–7.
151. Nishida N, Komatsu Y, Komeda T, Fukuda Y. Interferon-alpha improves bone resorption and osteopenia in patients with chronic hepatitis C. *Hepatol Res*. 2006 Apr;34(4):222–7.
152. Beaupre GS, Lew HL. Bone-Density Changes After Stroke. *Am J Phys Med Rehabil*. 2006 May;85(5):464–72.
153. Damrongrungruang T, Kuroda S, Kondo H, Aoki K, Ohya K, Kasugai S. A

- simple murine model for immobilization osteopenia. *Clin Orthop Relat Res*. 2004 Aug;(425):244–51.
154. Schiefke I, Fach A, Wiedmann M, Aretin A-V, Schenker E, Borte G, et al. Reduced bone mineral density and altered bone turnover markers in patients with non-cirrhotic chronic hepatitis B or C infection. *World J Gastroenterol*. 2005 Mar 28;11(12):1843–7.
 155. Orsini LGS, Pinheiro MM, Castro CHM, Silva AEB, Szejnfeld VL. Bone Mineral Density Measurements, Bone Markers and Serum Vitamin D Concentrations in Men with Chronic Non-Cirrhotic Untreated Hepatitis C. Malaval L, editor. *PLoS One*. 2013 Nov 28;8(11):e81652.
 156. Hofmann WP, Kronenberger B, Bojunga J, Stamm B, Herrmann E, Bücke A, et al. Prospective study of bone mineral density and metabolism in patients with chronic hepatitis C during pegylated interferon α and ribavirin therapy. *J Viral Hepat*. 2008 Nov;15(11):790-6.
 157. Pastor JM, Hermosa V, Ruiz Tagle MA, Zubizarreta A. [Anti-HCV antibodies among blood donors in Cantabria. Incidence and relation to transaminase levels]. *Sangre (Barc)*. 1990 Jun;35(3):205–7.
 158. Tripodi A, D'Ambrosio R, Padovan L, Tosetti G, Aghemo A, Primignani M, et al. Evaluation of coagulation during treatment with directly acting antivirals in patients with hepatitis C virus related cirrhosis. *Liver Int*. 2017 Jan 27;
 159. González-Reimers E. Thrombin activation and liver inflammation in advanced hepatitis C virus infection. *World J Gastroenterol*. 2016;22(18):4427.
 160. Moe SM, Pampalone AJ, Ofner S, Rosenman M, Teal E, Hui SL. Association of Hepatitis C Virus Infection With Prevalence and Development of Kidney Disease. *Am J Kidney Dis*. 2008 Jun;51(6):885–92.
 161. Dalrymple LS, Koepsell T, Sampson J, Louie T, Dominitz JA, Young B, et al. Hepatitis C Virus Infection and the Prevalence of Renal Insufficiency. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2007 May 30;2(4):715–21.
 162. Hofmann JN, Törner A, Chow W-H, Ye W, Purdue MP, Duberg A-S. Risk of kidney cancer and chronic kidney disease in relation to hepatitis C virus

- infection: a nationwide register-based cohort study in Sweden. *Eur J Cancer Prev.* 2011 Jul;20(4):326–30.
163. Asrani SK, Buchanan P, Pinsky B, Rey LR, Schnitzler M, Kanwal F. Lack of Association Between Hepatitis C Infection and Chronic Kidney Disease. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2010 Jan;8(1):79–84.
 164. Li M, Wang P, Yang C, Jiang W, Wei X, Mu X, et al. A systematic review and meta-analysis - Does hepatitis C virus infection predispose to the development of chronic kidney disease ? *Oncotarget.* 2015 Jul 18;
 165. Fabrizi F, Verdesca S, Messa P, Martin P. Hepatitis C Virus Infection Increases the Risk of Developing Chronic Kidney Disease: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Dig Dis Sci.* 2015 Dec 21;60(12):3801–13.
 166. Smith DB, Bukh J, Kuiken C, Muerhoff AS, Rice CM, Stapleton JT, et al. Expanded classification of hepatitis C virus into 7 genotypes and 67 subtypes: Updated criteria and genotype assignment web resource. *Hepatology.* 2014 Jan;59(1):318–27.
 167. Delang L, Neyts J, Vliegen I, Abrignani S, Neddermann P, De Francesco R. Hepatitis C virus-specific directly acting antiviral drugs. *Curr Top Microbiol Immunol.* 2013;369:289–320.
 168. Simmonds P, Bukh J, Combet C, Deléage G, Enomoto N, Feinstone S, et al. Consensus proposals for a unified system of nomenclature of hepatitis C virus genotypes. *Hepatology.* 2005 Oct;42(4):962–73.
 169. Li C, Barnes E, Newton PN, Fu Y, Vongsouvath M, Klenerman P, et al. An expanded taxonomy of hepatitis C virus genotype 6: Characterization of 22 new full-length viral genomes. *Virology.* 2015 Feb;476:355–63.
 170. Gérard C, Delwaide J, Vaira D, Bastens B, Servais B, Wain E, et al. Evolution over a 10 year period of the epidemiological profile of 1,726 newly diagnosed HCV patients in Belgium. *J Med Virol.* 2005 Aug;76(4):503–10.
 171. Dubois F, Desenclos JC, Mariotte N, Goudeau A. Hepatitis C in a French population-based survey, 1994: seroprevalence, frequency of viremia, genotype distribution, and risk factors. The Collaborative Study Group. *Hepatology.* 1997

Jun;25(6):1490–6.

172. Rivero-Juarez A, Gutierrez-Valencia A, Castaño M, Merino D, Neukam K, Ríos-Villegas MJ, et al. Dimension of chronic hepatitis C virus in HIV-infected patients in the interferon-free era: an overview from south Spain. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2015 Nov 5;34(11):2247–55.
173. Messina JP, Humphreys I, Flaxman A, Brown A, Cooke GS, Pybus OG, et al. Global distribution and prevalence of hepatitis C virus genotypes. *Hepatology*. 2015 Jan;61(1):77–87.
174. Zeuzem S, Alberti A, Rosenberg W, Marcellin P, Diago M, Negro F, et al. Review article: management of patients with chronic hepatitis C virus infection and “normal” alanine aminotransferase activity. *Aliment Pharmacol Ther*. 2006 Oct 15;24(8):1133–49.
175. Durante-Mangoni E, Zampino R, Portella G, Adinolfi LE, Utili R, Ruggiero G. Correlates and prognostic value of the first-phase hepatitis C virus RNA kinetics during treatment. *Clin Infect Dis*. 2009 Aug 15;49(4):498–506.
176. Ke W-M, Xie S-B, Yu L-N, Liu T, Lai J, He D-Q, et al. Decline of Serum HBV DNA and No Change Apportioned by the Same Hepatic Parenchyma Cell Volume from Hepatic Fibrosis Stage 1 to Stage 4 during the Natural History of Chronic Hepatitis B. *Intervirology*. 2008;51(4):235–40.
177. Xu Z, Lin J, Lin G, Wei F, Liu J, Zhao Z, et al. Hepatitis C virus load in parenchyma cells correlates with hepatic injury in infected patients. *Exp Ther Med*. 2016 Nov 18;
178. Guh JY, Lai YH, Yang CY, Chen SC, Chuang WL, Hsu TC, et al. Impact of decreased serum transaminase levels on the evaluation of viral hepatitis in hemodialysis patients. *Nephron*. 1995;69(4):459–65.
179. Lemos LB, Perez RM, Lemos MM, Lanzoni VP, Draibe SA, Silva IS, et al. Hepatitis C in chronic kidney disease: predialysis patients present more severe histological liver injury than hemodialysis patients? *Am J Nephrol*. 2007 Mar 14;27(2):191–6.
180. Furusyo N, Hayashi J, Ariyama I, Sawayama Y, Etoh Y, Shigematsu M, et al.

- Maintenance hemodialysis decreases serum hepatitis C virus (HCV) RNA levels in hemodialysis patients with chronic HCV infection. *Am J Gastroenterol*. 2000 Feb;95(2):490–6.
181. Gluhovschi C, Gadalean F, Kaycsa A, Curescu M, Sporea I, Gluhovschi G, et al. Does the antiviral therapy of patients with chronic hepatitis exert nephrotoxic effects? *Immunopharmacol Immunotoxicol*. 2011 Dec 14;33(4):744–50.
 182. Blé M, Aguilera V, Rubín A, García-Eliz M, Vinaixa C, Prieto M, et al. Improved renal function in liver transplant recipients treated for hepatitis C virus with a sustained virological response and mild chronic kidney disease. *Liver Transpl*. 2014 Jan;20(1):25–34.
 183. Barsoum RS. Hepatitis C virus: from entry to renal injury--facts and potentials. *Nephrol Dial Transplant*. 2007 Jul 20;22(7):1840–8.
 184. Hézode C, Asselah T, Reddy KR, Hassanein T, Berenguer M, Fleischer-Stepniewska K, et al. Ombitasvir plus paritaprevir plus ritonavir with or without ribavirin in treatment-naïve and treatment-experienced patients with genotype 4 chronic hepatitis C virus infection (PEARL-I): a randomised, open-label trial. *Lancet*. 2015 Jun;385(9986):2502–9.
 185. Hézode C, Alric L, Brown A, Hassanein T, Rizzetto M, Buti M, et al. Randomized controlled trial of the NS5A inhibitor daclatasvir plus pegylated interferon and ribavirin for HCV genotype-4 (COMMAND-4). *Antivir Ther*. 2015 Aug 27;21(3):195–205.
 186. Garimella T, Wang R, Luo W-L, Hwang C, Sherman D, Kandoussi H, et al. Single-dose pharmacokinetics and safety of daclatasvir in subjects with renal function impairment. *Antivir Ther*. 2015;20(5):535–43.
 187. Kirby BJ, Symonds WT, Kearney BP, Mathias AA. Pharmacokinetic, Pharmacodynamic, and Drug-Interaction Profile of the Hepatitis C Virus NS5B Polymerase Inhibitor Sofosbuvir. *Clin Pharmacokinet*. 2015 Jul 31;54(7):677–90.
 188. Kohli A, Alshati A, Georgie F, Manch R, Gish RG. Direct-acting antivirals for the treatment of chronic hepatitis C in patients with chronic kidney disease. *Therap Adv Gastroenterol*. 2016 Nov;9(6):887–97.